

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Kateřina Černá

Vliv složení střevní mikrobioty na kondici u ptáků

The effect of gut microbiota composition on condition in birds

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Michal Vinkler, Ph.D.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 4. května 2021

Kateřina Černá

Poděkování:

Ráda bych poděkovala především svému školiteli Michalu Vinklerovi za hodnotné rady, čas strávený konzultacemi, i za vstřícnost. Dále bych chtěla poděkovat Lucii Schmiedové za konzultaci některých mikrobiologických problematik. A v neposlední řadě i svému otci za korekturu.

Abstrakt

Tato práce si klade za cíl shrnout dosavadní znalosti o vlivu složení střevní mikrobioty na kondici ptáků. Vliv střevní mikrobioty na různé aspekty fyziologie živočichů je nyní intenzivně studován a pochopení jeho biomedicínského významu představuje aktuální téma. Většina současného výzkumu se však soustředí na člověka a jiné savce. U ptáků je pak výzkum zaměřen především na hospodářsky významné druhy. Tato práce se proto zabývá i aplikovatelností výsledků zemědělsky orientovaného výzkumu na studium volně žijících druhů ptáků. Výsledky zemědělsky orientovaných studií citovaných v této práci ukazují vysokou mezidruhovou i vnitrodruhovou variabilitu v účincích některých bakterií na kondici hostitele, což by mělo být bráno v potaz v experimentech na volně žijících druzích. Tato práce shrnuje dosavadní znalosti o vlivu bakterií na kondici ptáků získané v korelačních i manipulačních studiích. Manipulační studie zahrnují ty, ve kterých byla ptákům podávána probiotika nebo antibiotika. Jsou zde shrnuty i hlavní mechanismy účinku probiotických bakterií na kondici hostitele. Jedním z cílů této práce bylo také zjistit možnosti využití detekce některých druhů bakterií jakožto neinvazivní metody pro hodnocení kondice ptáků. Jako markery dobré kondice tato práce navrhuje bakterie *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* a bakterie rodu *Ruminococcus*.

Klíčová slova: Ptáci (*Aves*), drůbež, mikrobiota, gastrointestinální systém, kondice, zdravotní stav

Abstract

The aim of this thesis is to summarize present knowledge concerning the effects of gut microbiota composition on condition in birds. The effect of gut microbiota on various aspects of animal physiology is currently intensively studied and the understanding of its biomedical importance is a topical theme. However, the majority of the current research is focused on humans and other mammals, and in birds on agriculturally significant species. Therefore, this thesis focuses also on the applicability of results of agriculturally orientated research on free-living birds' study. The results of agricultural research show a high interspecies and intraspecies variability in the effects of certain bacteria on the condition of the host. That should be taken into account when designing experiments in wild-living species. This thesis summarizes current knowledge concerning the effects of bacteria on condition of birds that was gained in correlational and manipulative studies. Manipulative studies include those in which probiotics or antibiotics were given to birds. The main modes of action of probiotic bacteria are also summarized here. One of the aims of this thesis was also to find out the possibilities of using detection of certain bacterial species as a non-invasive method to assess birds' condition. This thesis suggests *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* and *Ruminococcus* sp. as markers of a good condition.

Keywords: Birds (*Aves*), poultry, microbiota, gastrointestinal tract, condition, health

Obsah

Úvod a cíle	1
1. Metody zjišťování kondice u ptáků	3
1.1. Měření energetických rezerv nedestruktivními metodami.....	4
1.2. Měření kondice hematologickými metodami	6
1.3. Měření kondice v zemědělském výzkumu	8
2. Mikrobiota trávicího traktu ptáků	9
2.1. Srovnání se savci.....	9
2.2. Složení ptačí střevní mikrobioty	9
2.3. Rozdíly mezi jednotlivými oddíly GIT.....	12
3. Vztah mikrobioty a kondice u ptáků.....	14
3.1. Výsledky korelačních a manipulačních studií na volně žijících druzích ptáků.....	14
3.2. Výsledky korelačních studií na drůbeži	16
3.3. Výsledky manipulačních studií na drůbeži	18
3.3.1. Nejčastěji používaná probiotika	20
3.4. Mechanismy ovlivnění kondice bakteriemi.....	22
3.4.1. Ovlivnění histomorfologie střeva a produkce mucinů	22
3.4.2. Změny hostitelského metabolismu a koncentrace látek v krvi	24
3.4.3. Potlačení patogenů a ovlivnění imunitní odpovědi hostitele.....	25
3.5. Aplikovatelnost výsledků hospodářského výzkumu na volně žijící druhy	27
3.6. Antibiotika	28
Závěr	30
Literatura	32

Úvod a cíle

Již od 17. století vědci zkoumají mikroorganismy, které obývají těla lidí i jiných živočichů. Dnešní výzkumy ukazují, že například u člověka je poměr bakteriálních a tělních buněk přibližně 1:1 (Sender, Fuchs, a Milo 2016). Mikrobiota však není tvořena jen bakteriemi, a navíc bývá někdy zaměňována s pojmem mikrobiom, proto je potřeba si tyto pojmy definovat. Mikrobiom se nejčastěji definuje jako „komunita komenzálních, mutualistických a patogenních organismů v rámci těla nebo jiného prostředí“ (Lederberg a McCray 2001). Mikrobiom by však měl být chápán jako celý ekosystém, zatímco mikrobiota je souhrnný pojem pro všechny živé členy mikrobiomu (Berg et al. 2020). Mikrobiota se skládá z mnoha mikroorganismů – patří do ní bakterie, archea, mikroskopické houby, řasy, i protista. Zahrnutí virů, plasmidů a mobilních genetických elementů je sporné. Například Berg et al. (2020) tvrdí, že by se za součást mikrobioty považovat neměly, neboť to nejsou živé mikroorganismy, nicméně do mikrobiomu, jakožto ekosystému, zahrnuti jsou.

Výše zmíněná definice mikrobiomu rozděluje mikroorganismy obývající tělo na komenzální, mutualistické a patogenní. To je poněkud zjednodušující pohled, neboť některé mikroorganismy mohou svůj vztah k hostiteli měnit v závislosti na podmínkách. Například tzv. příležitostně patogenní organismy, které jsou za normálních okolností komenzální, se mohou stát patogenními v případě imunosuprese v těle hostitele (Moreno et al. 2003). Porozumění komplexním vztahům mezi mikrobiotou a hostitelem má silný potenciál pro využití v medicíně (Turnbaugh et al. 2007). V roce 2008 byl zahájen rozsáhlý projekt zaměřený na výzkum lidské střevní mikrobioty – NIH Human Microbiome Project. Ten pomohl odhalit, jaké mikroorganismy tvoří lidský mikrobiom, a popsat, jak jsou složení a diverzita střevní mikrobioty spojeny s rozvojem některých onemocnění, jako jsou například idiopatické střevní záněty (IBD) nebo obezita (Proctor et al. 2019).

Podobné aplikace výzkumu střevní mikrobioty jako v humánní medicíně lze předpokládat i ve veterinární a zemědělské praxi. Drůbeží maso je v současnosti druhým nejkonzumovanějším masem na světě – v roce 2012 činila produkce drůbeže více než 100 mil. tun a toto číslo stále roste (FAO 2014). Je proto velký tlak na výzkum různých faktorů, které ovlivňují kondici a produktivitu hospodářsky významných druhů ptáků. Proto se i většina mikrobiálního výzkumu provádí na druzích jako jsou kur domácí (*Gallus gallus domesticus*), krůta domácí (*Meleagris gallopavo domestica*) nebo křepelka japonská (*Coturnix japonica*). Naopak tématem mikrobioty volně žijících ptáků se doposud zabývalo jen malé množství studií, přestože volně žijící ptáci mohou být významnými přenašeči chorob a důležitým modelem pro studium vlivu různých faktorů na mikrobiotu (Grond et al. 2018). Tato práce si klade za cíl zmapovat dosavadní výzkum prováděný jak na volně žijících, tak i na domestikovaných druzích ptáků a ideálně obohatit ekologicko-evoluční výzkum o znalosti získané v zemědělském výzkumu. Samozřejmě je nutné brát v potaz odlišnosti mezi domestikovanými a volně žijícími ptáky,

neboť ne vše, co platí v zemědělském výzkumu, platí i ve volné přírodě. Většina hospodářsky významných druhů ptáků patří do fylogeneticky bazálních skupin, zvířata jsou chována v ideálních podmínkách s dostatkem potravy (která je navíc stále stejná) a často jsou jim podávána antibiotika, ať už preventivně nebo terapeuticky (Taff a Townsend 2017; Scupham et al. 2008). To vše může jejich střevní mikrobiotu a tím i výsledky některých experimentů ovlivňovat. Na druhou stranu zemědělský výzkum má ve srovnání s ekologicko-evolučním i své výhody, jako je snadné provádění výzkumu na velkém počtu jedinců, vyšší praktická využitelnost, nebo možnost provádět některé experimenty, které z etických nebo praktických důvodů nelze provádět na volně žijících ptácích.

Tyto praktické a etické důvody jsou zároveň jedním z důvodů (byť ne tím hlavním), proč se jak většina výzkumu zaměřeného na mikrobiotu, tak i tato práce, zabývá především mikrobiotou trávicího traktu. Zatímco mikrobiotu dýchací nebo urogenitální soustavy lze jen těžko studovat metodami, které by pro ptáka nebyly destruktivní (s výjimkou výtěru kloaky a zobáku), analýza střevních bakterií z trusu je z tohoto hlediska bezproblémová. Zároveň lze složením střevní mikrobioty relativně snadno manipulovat pomocí doplňků stravy – probiotik nebo prebiotik (Stanley et al. 2014). Ale hlavním důvodem, proč se výzkum mikrobioty soustředí na trávicí soustavu, jsou důkazy o silném vlivu střevní mikrobioty (zejména bakterií) na trávení (Apata 2008), imunitní systém (Han et al. 2018), zdravotní stav (Taff a Townsend 2017; Proctor et al. 2019) nebo dokonce mozkovou činnost (Davidson et al. 2020) hostitele. Tyto významné interakce s hostitelem mohou souviset i s tím, že střevo hostí ve srovnání s jinými orgány mnohem bohatší mikrobiotu (Turnbaugh et al. 2007).

Abychom mohli porovnávat vliv jednotlivých složek mikrobioty na kondici hostitele, je nejprve potřeba kondici definovat a pochopit její jednotlivé složky. Tato práce si proto klade za cíl popsat různé metody, kterými se kondice ptáků v experimentech měří nebo odhaduje. Dále se práce zabývá popisem složení ptačí střevní mikrobioty, zejména její bakteriální složky. Následně jsou tato dvě témata propojena díky shrnutí výsledků korelačních a manipulačních studií, které se věnují vlivu střevní mikrobioty na kondici ptáků. Jelikož většina těchto studií byla provedena na drůbeži, zabývá se tato práce i aplikovatelností výsledků takových studií na volně žijící druhy. Manipulační studie nám totiž mohou poskytnout informace důležité pro pochopení mechanismů působení mikrobioty na kondici.

Tato práce si tedy klade za cíl:

- popsat, které metody se používají pro měření jednotlivých složek kondice ptáků
- zjistit, které skupiny bakterií jsou nejčastěji přítomny v trávicím traktu ptáků
- zjistit, jak složení střevní mikrobioty ovlivňuje kondici hospodářských i volně žijících ptáků
- vytipovat skupiny střevních bakterií, které by mohly být vhodnými markery kondice
- ověřit aplikovatelnost výsledků zemědělského výzkumu pro studium volně žijících ptáků

1. Metody zjišťování kondice u ptáků

Kondice je pojem, který je v různých studiích definován různými způsoby. Kondice v širším slova smyslu zahrnuje zdravotní stav, výživový stav, zkušenosti a míru fyziologického opotřebení jedince (Gosler a Harper 2000). Tyto veličiny však nelze jednoduše měřit, a proto většina biologů používá pojem kondice v užším slova smyslu – nejčastěji jako množství energetických rezerv, tedy tuků a/nebo proteinů (viz kap. 1.1) (Labocha a Hayes 2012). Variabilita v kondici mezi jedinci je obvykle spojena s variabilitou v množství lipidů v těle, neboť ty jsou výhodnější energetickou zásobou než proteiny. Ale optimální tělesná kondice znamená rovnováhu mezi oběma těmito tkáněmi (Schamber et al. 2009). Někdy je měřeno absolutní množství zásobních látek, jindy jejich relativní zastoupení oproti ostatním tkáním (Schamber et al. 2009). Množství energetických rezerv je tedy chápáno jako jedna ze složek celkové kondice, kterou lze měřit (Gosler a Harper 2000).

Další složkou kondice, kterou lze zjišťovat, je zdravotní stav. Jeho ukazatelem mohou být například některé hematologické parametry (viz kap. 1.2), přítomnost parazitů (virových či bakteriálních patogenů, i mnohobuněčných parazitů), nebo viditelné poškození těla (Gosler 1991; Stejskalová 2001; Mills et al. 1999). Dalším ukazatelem zdravotního stavu i množství energetických rezerv může být prezentace kondičně závislých vnějších znaků (*condition-dependent advertisement*), jako jsou například intenzita zbarvení peří nebo symetrie těla (Stejskalová 2001). Gosler (1991) zaznamenal negativní korelaci mezi počtem nepřepelichaných per u mladých sýkor koňader (*Parus major*) a velikostí prsního svalu v zimě. Tyto výsledky tedy naznačují, že i míra přepelichání souvisí s kondicí ptáka. Většina těchto kondičně závislých vnějších znaků však reflektuje kondici ptáka v době, kdy byly tyto znaky vytvářeny (Stejskalová 2001).

Pokud je výzkum prováděn na volně žijící populaci, odchyt studovaných jedinců musí proběhnout tak, aby byla vyloučena selekce těch, kteří jsou v horší kondici než ostatní (Stejskalová 2001). Dalším důležitým krokem je volba kondičního parametru. Použitím různých parametrů kondice pro hodnocení jednoho a téhož jedince, totiž můžeme získat výrazně jiné výsledky. Rozdíly jsou zejména mezi parametry měřícími zdravotní stav a parametry měřícími váhu nebo velikost těla. Mezi těmito složkami kondice totiž existuje trade-off. Například kuřata selektovaná na vysokou rychlost růstu mívají zhoršené funkce imunitního systému, zřejmě kvůli vysoké energetické náročnosti obou těchto aspektů (Most et al. 2011). Výběr kondičního parametru může záviset na tom, o jaký druh ptáka se jedná. Zatímco u drůbeže se věnuje pozornost zejména těm kondičním znakům, které souvisí s produktivitou, u volně žijících ptáků jsou z etických důvodů preferovány nedestruktivní a ideálně i neinvazivní metody.

1.1. Měření energetických rezerv nedestruktivními metodami

Množství energetických rezerv lze měřit mnoha způsoby. Ty nejpřesnější jsou založené na pitvě daného jedince (analýza látkového složení těla – viz kap. 1.3), proto jsou označovány jako destruktivní. Tyto metody jsou ale u volně žijících druhů eticky problematické a jejich provedení je časově i finančně náročné (Seewagen 2008). Proto se častěji používají metody nedestruktivní, které lze provádět bez zabíjení studovaného jedince, i když jsou tyto metody méně přesné (McWilliams a Whitman 2013). Přesnost těchto metod se zjišťuje srovnáváním s výsledky analýzy látkového složení těla.

Nejčastější způsob nedestruktivního odhadu kondice je založen na měření tělesné hmotnosti. Tato metoda je jednoduše proveditelná a používá se proto ve většině studií, kde odhad kondice není hlavním účelem práce. Má to však své problémy. Korelaci množství zásobní tkáně a hmotnosti celého těla lze předpokládat jen za určitých podmínek. Studovaná skupina jedinců musí mít podobnou velikost těla (kostry, svalů, orgánů), podobně hmotný obsah střev a jedinci musí být podobně hydratováni (Labocha a Hayes 2012). Pokud se nevezme v potaz velikost těla a kondice bude odhadována pouze na základě hmotnosti, budou se větší jedinci jevit v lepší kondici než malí, přestože relativní zastoupení zásobních tkání tomu nemusí odpovídat. Přestože velikost těla může ovlivnit například schopnost získat potravu a tím mít vliv i na kondici, nemůžeme brát celkovou tělesnou váhu jako univerzální ukazatel kondice (Gosler a Harper 2000).

Proto se často používají různé indexy kondice, které se vypočítávají jako poměr hmotnosti a velikosti těla. Velikost těla je v tomto případě zastoupena nějakým snadno měřitelným morfometrickým údajem, nejčastěji délkou běháku, zobáku, ocasu nebo křídla. Jelikož žádný z těchto lineárních rozměrů není zcela přesně úměrný celkové velikosti těla, je ideální použití kombinací několika různých (Gosler a Harper 2000). Přestože se může zdát logické, že vztažení hmotnosti k velikosti těla zpřesní odhad skutečného množství tuku v těle, mnoho studií toto rozporuje (např. Seewagen 2008; Labocha a Hayes 2012). To může být způsobeno tím, že zvolené lineární rozměry špatně korelují s celkovou velikostí těla. Navíc u některých druhů ptáků mohou být určité morfometrické znaky závislé na pohlaví (Labocha a Hayes 2012).

Další často využívanou možností, jak vypočítat obsah tuku podle hmotnosti a velikosti těla jsou reziduály z regrese. Reziduál představuje tu část tělesné hmotnosti, která není závislá na velikosti těla (Gosler a Harper 2000). Pomocí lineární regrese určíme, jakou hmotnost by při své velikosti jedinec měl teoreticky mít. A reziduál potom představuje rozdíl mezi touto teoretickou hodnotou a skutečně naměřenou hmotností. Předpokládá se, že tento rozdíl reflektuje množství energetických zásob (Ardia 2005). Reziduál z regrese se někdy označuje jako SMI (*scaled mass index*) (např. Teyssier et al. 2018) nebo RBM (*residual body mass*) (např. Ardia 2005). Problematické je, že tyto indexy se někdy počítají ze zlogaritmovaných hodnot a jindy z hodnot normálních, neboť pro každý studovaný druh vychází lépe

něco jiného. Navíc tyto indexy nepopisují absolutní hodnotu znaku, ale pouze relativní srovnání s ostatními jedinci v dané populaci.

Kromě různých modelů založených na hmotnosti a případně velikosti těla existuje i několik dalších ukazatelů energetických rezerv ptáků. Asi nejčastěji používané je tukové skóre. To se měří subjektivním posouzením podkožního tuku, který prosvítá přes kůži zejména v oblasti prohlubně mezi srostlými klíčními kostmi (furcula) nebo v abdominální oblasti. Hodnotitel porovná studovaného jedince s předem definovanou skórovací tabulkou a podle toho ho zařadí do jedné z kategorií. I přes častý předpoklad, že je tato metoda nepřesná kvůli vysoké subjektivitě, se ukazuje, že její schopnost predikovat obsah tuku nebo váhu prázdného těla (viz kap. 1.3) je velmi dobrá (Owen 1981; Gregory a Robins 1998; Seewagen 2008). Bývá však upozorňováno na to, že ptáci s tukovým skóre 0 nemají nulové zásoby podkožního tuku (Rogers 1991; Gregory a Robins 1998).

Za zmínku stojí ještě dvě složitější metody, které se nepoužívají tak často. První z nich je TOBEC – total body electrical conductivity. Tato metoda je založena na tom, že tuková tkáň neobsahuje téměř žádnou vodu a má proto výrazně nižší vodivost než ostatní tkáně. Přístroj, do kterého se studovaný jedinec vloží, měří elektrickou vodivost těla pomocí změn v elektromagnetické vodivosti solenoidu. Z toho pak lze vypočítat procentuální zastoupení tuku v těle (Burger 1997). Hlavní výhodou TOBEC je to, že je univerzální pro všechny druhy živočichů, které se do přístroje vejdou. Pro měření kondice ptáků se však tato metoda téměř nepoužívá, protože dává méně přesné výsledky, než třeba odhad tukového skóre nebo jiné jednodušší metody (Burger 1997; McWilliams a Whitman 2013). Velmi dobrých výsledků naopak dosahuje analýza ředění deuteria (v anglicky psané literatuře D₂O dilution). I tato metoda je založena na předpokladu, že tuky neobsahují téměř žádnou vodu, ale na rozdíl od metody TOBEC měří relativní zastoupení vody v těle. Ptáci s větší relativní hmotností tuku mají nižší relativní zastoupení vody (McWilliams a Whitman 2013). D₂O se do těla vpraví injekcí a za určitý čas (minimálně 90 minut po injekci (Eichhorn a Visser 2008)) se odebere krev a měří se zastoupení deuteria v krvi pomocí infračervené spektrofotometrie (McWilliams a Whitman 2013). Tato metoda dokázala předpovědět 92 % variability v hmotnosti tukové tkáně u bernešky bělolící (*Branta leucopsis*) (Eichhorn a Visser 2008). Nevýhoda této metody spočívá v tom, že je na rozdíl od všech výše zmíněných invazivní.

Bohužel nelze určit, která z uvedených metod predikuje skutečný obsah tuku v těle nejpresněji. V některých studiích vychází nejlépe samotná tělesná hmotnost, v jiných poměr hmotnosti a některého z morfometrických údajů, a v dalších SMI, RBM nebo tukové skóre. Je proto potřeba před vlastním pokusem zaměřeným na kondici provést tzv. validační studii (Schamber et al. 2009). Ta porovná různé neletální metody s výsledky pitvy, a ověří tak, která metoda predikuje skutečný obsah tuku nejpresněji.

1.2. Měření kondice hematologickými metodami

Jak již bylo zmíněno na začátku této kapitoly, hematologické metody jsou významným zdrojem informací o zdravotním stavu (Maceda-Veiga et al. 2015), který je jednou z hlavních složek kondice. Některé parametry měřitelné z krve navíc mohou reflektovat i stres (Dlugošová 2020) nebo výživový stav (Gheorghe et al. 2020). Odběr krve se provádí celkem běžně jak u volně žijících ptáků, tak u drůbeže. Patří mezi invazivní metody, ale krevní roztěr vyžaduje jen 5-10 μ l krve a kompletní biochemická analýza 100 μ l (Maceda-Veiga et al. 2015). Díky tomu lze hematologické analýzy provádět i na malých druzích ptáků. Možnost použití krve pro diagnostiku zdravotního stavu ptáků (i jiných obratlovců) je však limitována tím, že chybí data, jak má složení krve vypadat v ideálním stavu. Naměřené hodnoty se proto porovnávají s výsledky předchozích studií, ale je potřeba brát v potaz, že v měřených parametrech existuje přirozená vnitrodruhová variabilita. Využití hematologických metod v zoologii dobře shrnuje např. Poplová (2011) a souvislosti mezi různými hematologickými parametry a stresem nebo některými zdravotními problémy pak například Dlugošová (2020). Proto se zde zaměřím především na ty parametry, které bývají sledovány ve spojení se složením střevní mikrobioty ptáků.

Některé studie (Ozcan et al. 2003; Siadati et al. 2017; Lan et al. 2017) používají jako ukazatel kondice koncentrace jednotlivých krevních elementů. Stanovují počty leukocytů (WBC), erytrocytů (RBC) a/nebo trombocytů. Zvýšený počet leukocytů obvykle souvisí s probíhajícím bojem imunitního systému proti infekci, naopak snížený počet znamená imunodeficienci (Murphy a Weaver 2016). Kondici může reflektovat i poměr heterofilů ku lymfocytům (tzv. H/L poměr), který se zvyšuje při dlouhodobém stresu nebo nedostatku potravy (Seifi et al. 2013; Poplová 2011). Ukazatelem aktivity imunitního systému mohou být koncentrace různých T-lymfocytů nebo poměr $CD4^+$ / $CD8^+$ T-lymfocytů (Wang et al. 2018). Množství erytrocytů v krvi určuje hematokrit, který zároveň slouží jako marker kapacity přenosu kyslíku (*oxygen carrying capacity*) (Maceda-Veiga et al. 2015). Anémie (snížený počet erytrocytů), může být způsobena bakteriální infekcí, což je důležité při studiu vlivu patogenních střevních bakterií. Anémie však může mít i mnoho jiných příčin, jako jsou přítomnost krevních nebo krev sajících parazitů, dehydratace, nedostatečný příjem minerálů, podvýživa či ztráta krve při zranění (Poplová 2011). Anémii je také možné detekovat pomocí nízké hladiny hemoglobinu, čehož využívají některé studie (např. Gheorghe et al. 2020). Naměřené hodnoty koncentrace erytrocytů a jednotlivých druhů leukocytů v krvi různých druhů ptáků shrnuje Davis (2009). Z jeho výsledků lze vidět, že tyto hodnoty jsou u ptáků velmi variabilní nejen na mezidruhové úrovni, ale i v rámci jednoho druhu.

Kromě krevních elementů lze analyzovat také složení plazmy. Koncentrace jednotlivých látek v krevní plazmě odráží různé složky fyziologického stavu jedince, a proto krevním markerem může být téměř jakákoliv složka krve (Maceda-Veiga et al. 2015). Záleží jen na tom, jaký fyziologický aspekt nás

zajímá. Jedním z nejčastěji měřených parametrů je celkové množství plazmatických bílkovin (hodnota TP z anglického *total protein*) (Siadati et al. 2017; Lumeij 1987; Gheorghe et al. 2020). Jako hlavní markery probíhajícího zánětu, a tedy zhoršeného zdravotního stavu, se používají proteiny akutní fáze (APP nebo APR podle *acute phase proteins/reactants*). Ty se rozdělují na pozitivní, jejichž koncentrace při zánětu stoupá, a negativní, jejichž koncentrace klesá. Mezi pozitivní APP u ptáků patří ceruloplasmin, alfa-1 kyselý glykoprotein, amyloid A, transferin, lektin vázající manózu (MBL), haptoglobin, hemopexin, fibrinogen a fibronektin (Chamanza et al. 1999; Zheng et al. 2016). Hlavním negativním APP ptáků je albumin (Zheng et al. 2016), který tvoří většinu plazmatických bílkovin jejich krve (stejně jako u lidí) (Lumeij 1987). Při akutním nebo chronickém zánětu se může zvyšovat hodnota TP (Chamanza et al. 1999), zejména kvůli zvýšení koncentrace alfa, beta nebo gamma-globulinů (včetně protilátek) (Lumeij 1987). Zvýšená koncentrace IgM je spojena s akutním zánětem, proto detekce zvýšené hladiny IgM v krvi slouží jako ukazatel akutní infekce. Záněty způsobené bakteriemi bývají spojeny s nárůstem C-reaktivního proteinu, což je beta-globulin, který bakterie opsonizuje a spouští komplementovou kaskádu (Murphy a Weaver 2016). Vzhledem k tomu, že při zánětu narůstají koncentrace některých globulinů a klesají koncentrace albuminu, bývá jako marker zánětu používán snížený poměr albumin/globulin. Zvýšení koncentrace TP bez snížení tohoto poměru lze předpokládat u dehydrovaných jedinců (Lumeij 1987). Z krve lze dále zjistit koncentrace různých imunologicky významných signálních látek jako jsou cytokiny (Wang et al. 2018).

Jiné bílkoviny krevní plazmy mohou poukázat na špatnou funkci některých orgánů. Například Capcarova et al. (2010), Gheorghe et al. (2020) a Ozcan et al. (2003) sledovali v souvislosti s vlivy střevní mikrobioty na kondici kuřat koncentrace bilirubinu, laktátdehydrogenázy, aspartátaminotransferázy, alaninaminotransferázy, gamma-glutamyltransferázy, glutamátdehydrogenázy, nebo alkalické fosfatázy. Zvýšená koncentrace těchto enzymů v plazmě je ukazatelem poškození jater. Na poškození ledvin může poukázat zvýšená koncentrace kyseliny močové (Siadati et al. 2017; Lumeij 1987). Ta je ale zároveň nejdůležitějším antioxidantem u ptáků (Stinefelt et al. 2005), a proto se v některých studiích (např. Gadau et al. 2019) používá jako marker oxidativního stresu. Kromě kyseliny močové mohou být antioxidační schopnosti krve měřeny pomocí detekce aktivity některých enzymů jako jsou katalázy, superoxid dismutáza nebo glutathion peroxidáza (Wang et al. 2018).

Kromě proteinů bývá ve studiích zaměřených na vliv střevní mikrobioty sledována například i koncentrace glukózy, cholesterolu (nebo poměr HDL/LDL), volného glycerolu nebo triglyceridů (Capcarova et al. 2010; Gheorghe et al. 2020; Ozcan et al. 2003). Koncentrace těchto látek v krvi souvisí s energetickými rezervami a reflektují výživový stav jedince. Jejich koncentrace jsou ovlivněny jak mírou jejich vstřebávání (která závisí na absorpčních schopnostech střeva, a tudíž může být ovlivněna mikrobiotou), tak i mírou jejich ukládání do zásobních tkání (Capcarova et al. 2010). Vysoká

koncentrace lipidových metabolitů v plazmě je u drůbeže považována za ukazatel dobré kondice (Gheorghe et al. 2020). Z minerálů bývají v plazmě sledovány hladiny vápníku, fosforu, hořčíku, sodíku, draslíku, železa nebo kobaltu (Siadati et al. 2017; Capcarova et al. 2010). Koncentrace minerálů může stejně jako u glukózy a lipidů souviset s účinností jejich vstřebávání a sloužit tak jako ukazatel míry vstřebávání látek ve střevě.

1.3. Měření kondice v zemědělském výzkumu

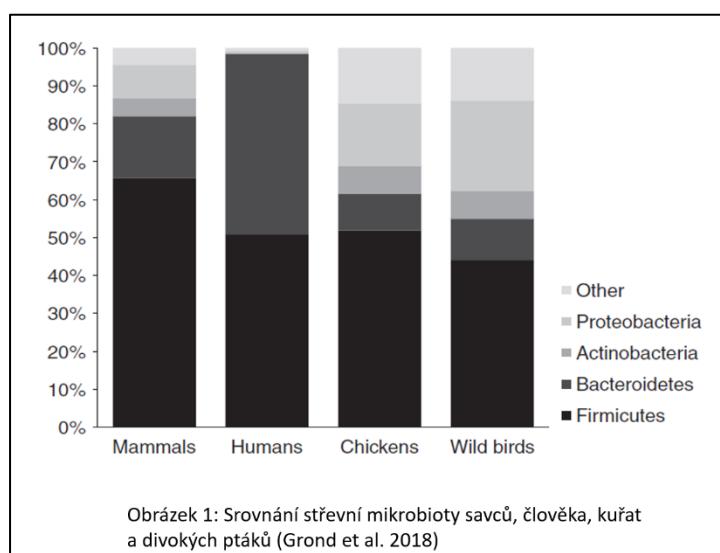
V zemědělském výzkumu se většinou místo anglického pojmu *condition* používá pojem *performance*, což bychom do češtiny mohli přeložit jako výkonnost. Zahrnuje zejména ty parametry, které jsou důležité pro hospodářský výnos – tedy rychlost růstu, váhu prsního svalu, poměr proteinů a tuků apod. Zatímco u volně žijících ptáků je kondice obvykle vnímána především v souvislosti s fitness, v zemědělství je důležitější růst, někdy i na úkor reprodukce. Ve výzkumu zaměřeném na vliv mikrobioty na výkonnost hospodářských ptáků se nejčastěji určují hodnoty BWG (*body weight gain*) a FCR (*feed conversion ratio*). Hodnota BWG udává, kolik jednotek hmotnosti (nejčastěji gramů) pták přibere za jednotku času (obvykle den nebo týden). FCR udává efektivitu krmení a počítá se jako podíl spotřebované potravy a BWG. Čím nižší FCR, tím efektivněji byla potrava přeměněna na váhu masa. Podobně se efektivita krmení měří pomocí hodnoty RFI (*residual feed intake*). Ta udává, kolik potravy jedinec spotřebuje navíc oproti množství, které spotřebuje průměrný jedinec této velikosti a pohlaví (Siegerstetter et al. 2017). I tato hodnota je tedy tím lepší, čím je nižší, což může působit matoucím dojmem. Proto některé studie uvádí spíše hodnotu FE (*feed efficiency*), tedy efektivitu krmení, která je převrácenou hodnotou FCR nebo RFI. Produktivita drůbeže může být měřena také podle času potřebného k dosažení tržní váhy (Diaz Carrasco et al. 2019). Kromě těchto parametrů se často hodnotí kvalita masa, a to podle jeho barvy, schopnosti zadržovat vodu (např. Lan et al. 2017), nebo podle toho, kolik procent váhy maso ztratí při tepelné úpravě (např. Hossain et al. 2015).

Pro zjišťování obsahu tuků nebo proteinů v těle se v zemědělském výzkumu používají téměř vždy metody destruktivní, které jsou založené na pitvě těla a analýze jeho látkového složení (*carcass analysis*). Taková analýza poskytne kompletní informace o stavbě těla, a představuje tím pádem standard, vůči kterému jsou ostatní metody odhadu kondice porovnávány (Stejskalová 2001). Při látkové analýze složení těla se nejčastěji odděluje tuková tkáň od zbytku těla, někdy se ale váží zvlášť i svalová tkáň, kostní tkáň, nebo se měří obsah vody v těle (McWilliams a Whitman 2013). Při měření nutričních zásob se zjišťuje hmotnost tuků a bílkovin, ale často i koncentrace minerálů v kostech (Stejskalová 2001). Někdy se také měří tzv. hmotnost prázdného těla, což je hmotnost jedince po odstranění veškerého obsahu trávicí trubice (např. Gregory a Robins 1998). Tyto metody jsou sice velmi přesné, ale mají i své nevýhody – jsou časově a technicky náročnější a nelze jimi sledovat změny kondice stejného jedince v průběhu času (Seewagen 2008).

2. Mikrobiota trávicího traktu ptáků

2.1. Srovnání se savci

Největší a nejprozkoumanější část střevní mikrobioty živočichů tvoří bakterie (Grond et al. 2018). Střevní mikrobiota většiny ptáků (s výjimkou několika málo hospodářsky významných druhů) je méně prozkoumaná než střevní mikrobiota savců a její studium zaostává za ostatním mikrobiologickým výzkumem (Waite a Taylor 2015). I u savců se však výzkum zaměřuje hlavně na některé druhy, zejména na člověka a myši. Více než polovinu lidské střevní mikrobioty tvoří Firmicutes (95 % z nich je z třídy *Clostridia*), hojně jsou zastoupené bakterie ze skupiny Bacteroidetes a jen asi 1 % tvoří dohromady Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucobacteria a Fusobacteria (Eckburg et al. 2005). Mikrobiota savců je variabilní, závislá především na druhu hostitele (Ley et al. 2008), ale obecně mají mnozí savci ve srovnání s lidmi vyšší zastoupení Proteobakterií a dalších pro člověka minoritních skupin, na úkor



Bacteroidetes (Grond et al. 2018). Ptáci mají oproti savcům ještě o něco vyšší diverzitu střevních mikrobů, což možná souvisí s jejich historickým vývojem nebo s horším počátečním mechanickým rozmělněním potravy (Grond et al. 2018). Složení ptačí mikrobioty je odlišné od savčí, rybí a hmyzí, ale podobné plazí (Waite a Taylor 2015), což by odpovídalo fylogenetickým vztahům.

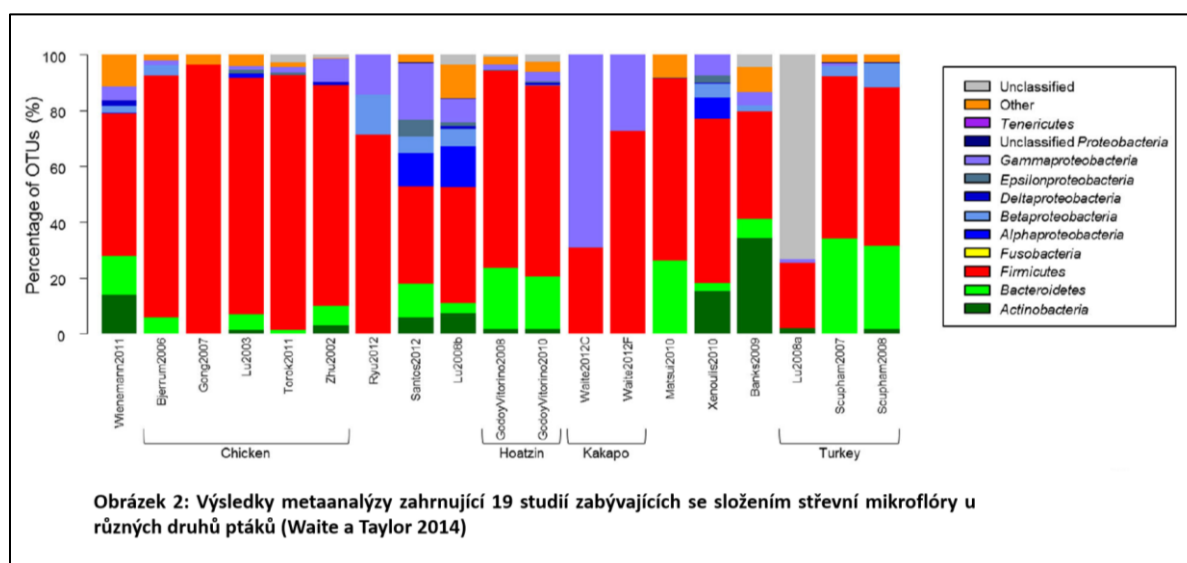
Zdá se, že zatímco u savců se často vyskytují bakterie specifické pouze pro daný druh hostitele, u ptáků je specifita pravděpodobně mnohem nižší a většina bakterií se vyskytuje v mnoha druzích hostitelů. Zajímavé je, že netopýři mají střevní mikrobiotu podobně nespecifickou jako ptáci, a naopak nelétaví ptáci mají často mikrobiotu specifickou, téměř jako savci. Toto naznačuje, že specifita mikrobioty by mohla souviset s aktivním letem (Song et al. 2020).

2.2. Složení ptačí střevní mikrobioty

Informace o složení střevní mikrobioty ptáků pochází zejména ze studií zaměřených na bakterie. U prokaryot nemůžeme definovat druh podle schopnosti vzájemného rozmnožování jedinců, jako je tomu například u většiny živočichů. Navíc v některých studiích není na základě dostupných sekvencí DNA možné určit příslušnost k druhu. Proto se obvykle místo druhu určuje příslušnost k OTU

(*operational taxonomic unit*), což je soubor bakterií, které mají podobnost DNA vyšší než 97 % (Berg et al. 2020). Jednotlivá OTU nalezená ve vzorku jsou poté přiřazována k pojmenovaným druhům, rodům nebo vyšším taxonomickým jednotkám.

Nejvíce studií analyzujících ptačí střevní bakterie bylo provedeno na drůbeži – kuřatech, slepicích, křepelkách, krůtách nebo kachnách (např. Olsen et al. 2008; Wei et al. 2013; Wang et al. 2016; Wilkinson et al. 2016; Xiao et al. 2017; Zhu et al. 2020). Z výsledků těchto studií vyplývá, že obvykle 60 – 70 % všech detekovaných sekvencí patří bakteriím z kmene Firmicutes, zejména rodům *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Ruminococcus*, *Eubacterium* a *Enterococcus*. Na druhém místě bývají bakterie z kmene Proteobacteria, které tvoří přibližně 5 – 30 %, nebo Bacteroidetes (3 – 50 %, zejména rody *Bacteroides* a *Prevotella*). Dále se často vyskytují Actinobacteria (nejčastěji *Corynebacterium*), Tenericutes a Cyanobacteria. Například u kachen ale zastoupení těchto minoritních kmenů mizí (nebo minimálně výrazně klesá) během ontogenetického vývoje a v dospělosti je již mikrobiota tvořena téměř výhradně bakteriemi ze skupin Firmicutes, Proteobacteria a Bacteroidetes (Zhu et al. 2020). Rod *Lactobacillus* se téměř ve všech zmíněných studiích uvádí jako dominantní rod, a to zejména v předních částech GIT – v ústní dutině, žaludku, voleti, ale někdy i ve střevech.



Kromě analýz střevní mikrobioty drůbeže existují i studie provedené na papoušcích (Liu et al. 2019; Xenoulis et al. 2010), kondorech (Roggenbuck et al. 2014), běžcích (Matsui et al. 2010; Bennett et al. 2013), pěvcích (Teyssier et al. 2018; Kropáčková et al. 2017) nebo různých druhů vodních ptáků (Laviad-Shitrit et al. 2019). Jedna studie dokonce srovnává 59 druhů ptáků z různých čeledí (Hird et al. 2015). I v těchto studiích bývá obvykle jako dominantní uváděn kmen Firmicutes, nejčastěji zastoupený stejnými rody jako byly zmíněny výše u drůbeže. Co se naopak liší od výsledků studií prováděných na drůbeži, je často vyšší zastoupení bakterií ze skupiny Proteobacteria než u drůbeže – až 46 %. Z kmene

Proteobacteria jsou nejčastější rody *Enterobacter*, *Escherichia/Shigella*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Pseudomonas* a *Rickettsia*. Dále bylo v těchto studiích pozorováno i výrazně nižší zastoupení bakterií z kmene Bacteroidetes (0 – 3 %), s výjimkou běžců (39 – 57 %). Obě studie na běžcích však analyzovaly mikrobiotu cék, která bývá odlišná od mikrobioty zbytku GIT (viz kap. 2.3).

Srovnávat výsledky výše uvedených studií a vyvozovat z nich obecně platné závěry je velmi těžké, neboť pro analýzu mikrobioty byly použity vzorky z různých oddílů GIT, trus i výtěry kloaky nebo ústní dutiny. Navíc ptačí mikrobiota je závislá na mnoha faktorech a je variabilní na mezidruhové i vnitrodruhové úrovni. Nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím složení střevní mikrobioty je fylogenetické postavení daného jedince (Hird et al. 2015; Liu et al. 2019). Jedinci různých druhů mívají odlišné složení mikrobioty, a to i v případě, že žijí na stejném místě a živí se stejnou potravou. V jedné studii (Roggenbuck et al. 2014) bylo srovnáváno složení mikrobioty kondorů chovaných v zoologické zahradě se sovami a jestřáby z té samé zoologické zahrady a volně žijícími kondory. Kondoři ze zoo měli mikrobiotu nejpodobnější divokým kondorům, přestože byli krmeni stejnou stravou jako ostatní draví ptáci v zoo, což dokazuje, že fylogenetické postavení hostitele ovlivňuje mikrobiotu více než potrava. Silný vliv fylogenetického postavení na složení mikrobioty je patrný i z toho, že klastrování podle složení mikrobioty obvykle odpovídá fylogenetickým vztahům předpokládaným podle podobnosti DNA (Laviad-Shitrit et al. 2019; Hird et al. 2015). Ale strava je také důležitým faktorem. Ve střevech herbivorních ptáků dominují *Lactobacillus* a *Clostridium* (Liu et al. 2019), které patří mezi Firmicutes. Thomas et al. (2011) uvádí u herbivorních ptáků zvýšený výskyt Bacteroidetes (u kterých je dokázána schopnost degradovat rostlinné biopolymery), což ovšem příliš nepodporuje novější srovnání provedené Waitem a Taylorem (Waite a Taylor 2015). U mrchožravých kondorů dominují *Fusobacteria* a *Clostridia* (Roggenbuck et al. 2014). Rozdíly jsou i mezi tažnými a stálými druhy ptáků. Předpokládá se, že tažní ptáci pravděpodobně budou mít vyšší diverzitu mikrobů, protože častěji střídají potravu, ale žádná studie porovnávající tažný druh s jeho příbuzným netažným druhem zatím provedena nebyla (Grond et al. 2018).

Kromě mezidruhové variability ve složení mikrobioty bývá u ptáků sledována i vysoká míra variability mezi jedinci téhož druhu. Na ní se podílí například prostředí, věk, pohlaví a v menší míře i geografický výskyt hostitele, ale velká část této variability není vysvětlena žádným z dosud studovaných faktorů (Hird et al. 2015; Liu et al. 2019). Vnitrodruhovou variabilitu střevní mikrobioty mohou podporovat i odlišnosti ve stravě, protože u generalistických ptáků mívá každý jedinec svou „oblíbenou“ potravu (Laviad-Shitrit et al. 2019).

V poslední době se výzkum ptačí mikrobioty začíná zabývat také jeho nebakteriálními složkami, zejména mikroskopickými houbami (Grond et al. 2018). Soubor mikroskopických hub obývajících GIT bývá označován jako mykobiom a byl nedávno analyzován u kuřat (Robinson et al. 2020). 90 – 99 %

střevního mykobiomu všech studovaných částí GIT podle této práce tvoří Ascomycota a Basidiomycota, zbytek pak například Zygomycota, Glomeromycota a další. Ascomycota tvořila 73 – 88 % mykobiomu a byla zastoupena zejména druhy *Microascus* a *Aspergillus*. Basidiomycota tvořila 12 – 27 %, ze kterých bylo 99 % tvořeno druhem *Trichosporon*. Dalšími běžnými houbami v GIT ptáků jsou různé druhy rodu *Candida* (Mancianti et al. 2002). V souvislosti s kondicí hospodářských druhů ptáků bývají nejčastěji studovány vlivy *Saccharomyces cerevisiae*. Tato kvasinka však není součástí běžné střevní mikrobioty ptáků, patří spíše mezi její přechodnou část (Mancianti et al. 2002). Robinson et al. (2020) zjistil, že relativní zastoupení jednotlivých rodů mikroskopických hub se mění v průběhu života. Zatímco v prvních dvou týdnech po vylíhnutí dominuje rod *Trichosporon*, později převládá rod *Microascus*. Složení mykobiomu také může být ovlivněno probiotiky nebo antibiotiky, což naznačuje, že bakteriální a houbové složky mikrobioty spolu interagují (Ward et al. 2019).

2.3. Rozdíly mezi jednotlivými oddíly GIT

Gastrointestinální trakt ptáků je diferenciován do několika oddílů s různými biochemickými vlastnostmi. Tudíž i jejich mikrobiální osídlení se může lišit. Není možné určit univerzálně platná pravidla toho, které druhy bakterií se vyskytují ve kterém oddílu, neboť GIT každého druhu ptáka je osídlen jiným spektrem mikroorganismů (Grond et al. 2018) a další variabilita je i mezi jedinci téhož druhu. V některých případech může být mikrobiota jednotlivých oddílů střeva jednoho jedince podobnější než mikrobioty stejného oddílu střeva u různých jedinců téhož druhu. Toto bylo pozorováno u několika druhů vodních ptáků (Laviad-Shitrit et al. 2019).

Výzkum orální a fekální mikrobioty sýkory koňadry (*Parus major*) ukázal, že vnitrodruhová variabilita mikrobioty orální dutiny je nízká, což naznačuje, že se tam bakterie dostávají z vnějšího prostředí. V trusu je variabilita vyšší, zřejmě proto, že je více ovlivněna vnitřním prostředím GIT jedince (Kropáčková et al. 2017). V tomto výzkumu zároveň nebyla sledována signifikantní korelace mezi mikrobiotou orální dutiny a trusu stejného jedince, což by odpovídalo předpokladu, že tyto dvě mikrobiální komunity jsou utvářeny odlišnými mechanismy. Pouze méně než 30 % OTU bylo nalezeno zároveň v orálním výtěru i v trusu. Jiná studie (Xiao et al. 2017) se zaměřila na srovnání mikrobioty různých oddílů střeva u kuřat – tří částí tenkého střeva (duodenum, jejunum, ileum), slepého střeva a tlustého střeva. Ve slepém střevě dominovaly bakterie z kmene Bacteroidetes, kdežto v ostatních oddílech bakterie z kmene Firmicutes. Vysoké zastoupení bakterií z kmene Bacteroidetes bylo pozorováno i v cékách křepelky japonské (Wilkinson et al. 2016) a dvou druhů běžců (Bennett et al. 2013; Matsui et al. 2010). Je proto pravděpodobné, že tyto bakterie jsou typické právě pro slepá střeva, ale pro potvrzení této hypotézy by bylo vhodné získat data i od fylogeneticky odvozenějších skupin ptáků, než jsou běžci a hrabaví. Bakteriální složení slepých střev se obvykle výrazně odlišuje od

ostatních částí GIT a má vysokou diverzitu (Wilkinson et al. 2016; Xiao et al. 2017). Naopak diverzita mikroskopických hub je v cékách ve srovnání s ostatními částmi GIT nízká (Robinson et al. 2020).

Mikrobiota jícnu a volete je málo probádaná (Grond et al. 2018), za zmínku však stojí vole hoacina chocholatého (*Opisthocomus hoazin*), což je jediný známý pták s fermentací ve voleti. Jeho vole obsahuje bakterie, které umím fermentovat listy, kterými se hoacin živí (Godoy-Vitorino et al. 2008). Naopak mikrobiota kloaky byla zkoumána u mnoha druhů ptáků. V kloace několika druhů papoušků byly nalezeny zejména bakterie patřící mezi Firmicutes, Proteobacteria a Actinobacteria (Xenoulis et al. 2010). Jejich relativní zastoupení se signifikantně lišilo mezi jedinci stejného druhu žijícími volně a těmi drženými v zajetí. U obou těchto skupin dominovaly Firmicutes, ale u jedinců žijících v zajetí tvořil většinu (62 %) *Lactobacillus*, kdežto u divoce žijících jedinců *Staphylococcus* (77 %). Bakterie obývajcí kloaku se mohou přenášet při pohlavním styku, díky čemuž mají samec a samice tvořící monogamní pár podobnou mikrobiotu kloaky (White et al. 2010).

Mikrobiota kloaky je důležitá i z pohledu imunity ptáků, neboť Fabriciova burza, kde dochází ke zrání B-lymfocytů, je výběžkem kloaky. Fabriciova burza je propojena s kloakou kanálem, kterým se do burzy mohou dostávat látky z kloaky (Kimura et al. 1986). Výzkum bakterií přítomných ve Fabriciově burze probíhal již v minulém století, ale metodou založenou na kultivaci bakterií, což je méně senzitivní metoda než modernější sekvenace 16S rRNA. V tomto výzkumu byly v burze detekovány bakterie ze skupin *Enterobacteriaceae*, *Streptococci* a *Lactobacilli* (Kimura et al. 1986). To, jestli tyto bakterie pocházely ze střev a kolonizovaly Fabriciovu burzu přes kloaku, nebylo spolehlivě potvrzeno, ale je to pravděpodobné. Později bylo prokázáno, že například antigeny bakterie *Escherichia coli*, pocházející ze střeva, tvoří komplexy s protilátkami a jsou zachytávány retikulárními buňkami ve Fabriciově burze (Sonoda et al. 2013). Tyto výsledky tedy podporují teorii, že střevní mikrobiota může přes kloaku a Fabriciovu burzu ovlivňovat imunitní systém hostitele.

Jak již bylo zmíněno, mikrobiota trusu je variabilní, a to zřejmě proto, že je silně ovlivněna vnitřním prostředím GIT hostitele (Kropáčková et al. 2017). Sekelja et al. (2012) analyzoval složení fekální mikrobioty kuřat jedenkrát denně po dobu 16 dní a zjistil, že podléhá pravidelným fluktuacím. Střídají se čtyři společenstva bakterií – v jednom dominují laktobacily (toto společenstvo má podobné složení jako mikrobiota volete a žaludku), ve druhém dominuje *Escherichia/Shigella* a ve dvou dalších *Clostridium* (tato společenstva zase byla podobná mikrobiotě cék, tenkého a tlustého střeva). Autoři studie proto navrhli, že tyto pravidelné fluktuace jsou způsobené periodickým vyprazdňováním jednotlivých částí GIT. Tuto hypotézu potvrzují i výsledky Wilkinson et al. (2016).

3. Vztah mikrobioty a kondice u ptáků

3.1. Výsledky korelačních a manipulačních studií na volně žijících druzích ptáků

Studií zabývajících se vlivem složení střevní mikrobioty na kondici volně žijících ptáků je velice málo. Je zvláštní, že se vlivu střevních mikrobů na kondici volně žijících ptáků věnuje tak málo pozornosti, neboť již v roce 1999 Mills et al. upozorňoval na to, že přenos mikrobů mezi jednotlivci (zejména mezi partnery nebo mezi rodiči a mláďaty) může mít významný vliv na fitness ptáků a mohl by proto být důležitou hnací silou evoluce chování. Chybí jak znalosti o vlivu patogenních bakterií (Benskin et al. 2009), tak znalosti o pozitivních efektech symbiotických bakterií (Moreno et al. 2003).

Několik málo prací se zabývalo hledáním korelací mezi složením střevní mikrobioty a různými kondičními parametry. Vysoká koncentrace gram-negativních bakterií fermentujících laktózu (např. *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*) může pozitivně korelovat s vyšší mírou asymetrie křídel, což naznačuje horší kondici jedince (Mills et al. 1999). Dále byla pozorována pozitivní korelace mezi přítomností *Enterococcus faecium* a váhou i velikostí mláďat lejska černohlavého (*Ficedula hypoleuca*) (Moreno et al. 2003). Ruiz-Rodriguez et al. (2009) pozoroval u mláďat straky obecné (*Pica pica*) vztah diverzity střevní mikrobioty s imunitní odpovědí (měřenou podle míry reakce na fytohemaglutinin) a u mláďat kukačky chocholaté (*Clamator glandarius*) s kondicí měřenou jako reziduál z tělesné hmotnosti vztažené na délku běháku a křídla. V této studii bylo složení mikrobioty zkoumáno metodou RISA (rRNA intergenic spacer analysis), která sice neumožňuje identifikaci jednotlivých skupin bakterií, ale umožňuje srovnání mezi jedinci. Potvrdilo se tedy, že jedinci s podobným složením mikrobioty mají podobnou kondici nebo imunitní reakci, ale z těchto výsledků nelze zjistit, které bakterie měly jaký vliv.

Některé studie předpokládají, že střevní mikrobiota (ať už nějaká konkrétní bakterie nebo třeba celková diverzita) může ovlivňovat pravděpodobnost infekce hostitele některým z patogenů. Snížená diverzita střevních bakterií dobře koreluje například s nákazou salmonelou (Murray et al. 2020), ale není jasné, zda snížená diverzita přispívá k rozvoji salmonely nebo zda probíhající infekce způsobuje snížení diverzity. V jiné podobné studii byl sledován vztah mezi střevní mikrobiotou a nákazou ptačí influenzou A u kachen (*Anas platyrhynchos*) (Ganz et al. 2017). Influenza-pozitivní jedinci sice nejevili viditelné známky nákazy, ale měli signifikantně nižší diverzitu bakterií odebraných z kloaky. Navíc měli ve srovnání se zdravými jedinci nižší zastoupení Firmicutes, a naopak více bakterií ze skupin Proteobacteria a Bacteroidetes. Ani zde bohužel nemůžeme určit, zda složení střevní mikrobioty ovlivnilo pravděpodobnost průniku viru do hostitele nebo zda ke změnám mikrobioty došlo až v důsledku onemocnění influenzou.

Přestože přímo vlivu mikrobioty na kondici je věnovaná tak malá pozornost, relativně časté jsou studie, které sledují, jak jsou některé parametry kondice, i složení mikrobioty ovlivněny některým

z dalších faktorů, například urbanizací. I takové práce však mohou poukázat na vztah mezi mikrobiotou a kondicí. Například dvě studie srovnávající vrabce domácí (*Passer domesticus*) z městských a venkovských lokalit (Gadau et al. 2019; Teyssier et al. 2018) poukázaly na to, že městští vrabci mohou mít vyšší zastoupení proteobakterií v tlustém střevě, a nižší zastoupení aktinobakterií v kloace. Gadau et al. (2019) zjistil v krvi městských vrabců vyšší koncentraci glukózy a nižší koncentraci kyseliny močové, a také méně volného glycerolu v játrech. Zda tyto změny souvisí se změnami ve složení mikrobioty není známo. Teyssier et al. (2018) však zjistil signifikantní korelaci mezi koncentrací bakterií z kmene Firmicutes a kondicí hostitele (ta byla měřena pomocí SMI). Vztah mezi složením mikrobioty a rozsahem urbanizovaných ploch lokality byl zjištěn i u ibisů bílých (*Eudocimus albus*), kteří začínají osidlovat městskou přírodu na Floridě (Murray et al. 2020). Zatímco rozdíly mezi urbánním a rurálním prostředím z hlediska biotických a abiotických faktorů jsou celkem dobře známy, rozdíly v mikrobiální fauně jsou sice předpokládány, ale zatím neprobádány (Lee et al. 2017). U straky obecné (*Pica pica*) byla v městské populaci pozorována nižší úspěšnost líhnutí vajec než v populaci rurální. Zároveň vejce rurálních ptáků měla vyšší koncentraci bakterií na skořápce vajec (Lee et al. 2017). Vzhledem k tomu, že na vejcích z rurálního prostředí bylo i více patogenních mikroorganismů, je možné, že úspěšnost líhnutí s těmito rozdíly v mikrobiotě skořápky nijak nesouvisela. Vliv mikrobioty skořápky na pravděpodobnost přežití mláďat po vylíhnutí pozorován nebyl.

U volně žijících druhů ptáků pak byly provedeny i studie, jejichž cílem bylo zhodnotit různé parametry kondice některého ptačího druhu. Tyto práce se často kromě tělesné hmotnosti, velikosti, krevních parametrů a dalších ukazatelů kondice zaměřují i na stanovení složení střevní mikrobioty, ale bohužel se nijak nevěnují možným vztahům a korelacím mezi naměřenými údaji. Takové studie byly provedeny například na několika druzích papoušků (McDonald et al. 2010) nebo na labutích (Milani et al. 2012).

Kromě střevních bakterií se u volně žijících ptáků občas věnuje pozornost i mikrobiotě peří. Ta může ovlivňovat zbarvení peří i kondici ptáka (Fenoglio et al. 2004), například proto, že některé bakterie rozkládají keratin v peří a tím narušují jeho termoregulační schopnosti (Gunderson et al. 2009). Naopak nepatogenní bakterie žijící v peří ptáků mohou zvyšovat kondici svého hostitele (Saag et al. 2011). Vzhledem k tomu, že bakterie z vnějšího prostředí (včetně bakterií žijících v hníždě, na kůži a v peří) se mohou dostávat do GIT (Saag et al. 2011), je možné, že tyto bakterie mohou ovlivňovat kondici podobnými mechanismy jako střevní bakterie.

Manipulační studie jsou u volně žijících druhů ptáků ještě vzácnější než korelační studie. Jeden manipulační experiment byl proveden na sýkoře koňadře (*Parus major*), která hnízdí v dutinách stromů. V tomto experimentu (Zablotni et al. 2020) byly sledovány rozdíly mezi mláďaty z přírodních hnízd a z hnízd, která byla nahrazena umělými hnízdy se sníženým množstvím mikrobů. Mláďata

vychovaná v umělých hnízdech měla menší počty bakterií (měřeno jako CFU – *colony-forming units*) na kůži a vyšší koncentraci hemoglobinu v krvi, což však může být způsobeno i tím, že v umělých hnízdech nebyli přítomni ektoparazitické členovci, kteří sají krev. Navíc čtyři dny po instalování umělých hnízd nebyl naměřen signifikantní rozdíl mezi počty bakterií v přírodních a umělých hnízdech, což naznačuje, že toto možná nebyl důvod nižších počtů bakterií na kůži mláďat.

Druhý manipulační experiment byl proveden také na sýkoře koňadře (Davidson et al. 2020). Zde autoři sledovali vliv stravy na složení mikrobioty a následné řešení technického úkolu pro získání odměny (PSP = *problem-solving performance*). Jedna skupina sýkor byla krmena hmyzem, druhá semeny, která obsahují ve srovnání s hmyzem více tuků, proteinů a vlákniny. U ptáků krmených hmyzem se po 13 dnech v trusu zvýšilo zastoupení bakterií ze skupin Proteobacteria (např. rod *Methylobacterium*) a Bacteroidetes. Navíc jedinci krmení hmyzem měli na konci experimentu nižší diverzitu střevních mikrobů a nižší schopnost řešení úkolu. Tento výsledek naznačuje, že vyšší diverzita mikrobioty může mít pozitivní vliv na kognitivní schopnosti ptáků.

3.2. Výsledky korelačních studií na drůbeži

U drůbeže se korelační studie provádí mnohem častěji než u volně žijících druhů ptáků. Singh et al. (2012) srovnával procentuální zastoupení bakteriálních kmenů v trusu kuřat s nízkým a vysokým FCR. Zastoupení proteobakterií bylo u obou skupin podobné – 50 % u kuřat s lepším (= nižším) FCR a 48 % u kuřat s horším (= vyšším) FCR. Kuřata s lepším FCR však měla 36 % bakterií z kmene Firmicutes a 12 % z Bacteroidetes, kdežto kuřata s horším FCR jen 26 % Firmicutes a 19 % Bacteroidetes. Yan et al. (2017) pozoroval, že vyšší zastoupení bakterií z rodu Firmicutes pozitivně koreluje s efektivitou krmení. Tyto výsledky podporují obecně uznávanou teorii, že u mnoha živočichů včetně člověka mají zdravější jedinci vyšší poměr Firmicutes ku Bacteroidetes. Jiné studie provedené na kuřatech však naznačují, že tento poměr často nemá na kondici ptáků významný vliv (Han et al. 2016; Yan et al. 2017).

Definovat tyto zákonitosti na úrovni kmenů však může být zavádějící, neboť některé kmeny zahrnují jak druhy prospěšné pro hostitele, tak i druhy patogenní. Proto se většina dostupných studií zabývá spíše vlivem jednotlivých rodů bakterií. Podobný problém se však může vyskytnout i na této úrovni, zejména pokud daný rod zahrnuje mnoho druhů, které se přirozeně vyskytují v GIT ptáků a mají protichůdné vlivy na kondici hostitele. Typickým příkladem je rod *Lactobacillus*. Angelakis a Raoult (2010) pozorovali, že kuřata s vyšší koncentrací laktobacilů v trusu mají v průměru vyšší hmotnost než ta s nižší koncentrací. Pozitivní vliv laktobacilů byl pozorován nejen při jejich vyšší koncentraci v trusu, ale i v cékách (Han et al. 2016; Du et al. 2020) nebo duodenu (Yan et al. 2017). V cékách byl pozorován pozitivní vliv *L. delbrueckii* a *reuteri* (Yan et al. 2017) nebo *L. oris* (Du et al. 2020) na efektivitu krmení. Naopak Torok et al. (2011) pozoroval, že zvýšená koncentrace *Lactobacillus salivarius*, *L. aviarius* a *L. crispatus* v ileu a cékách zhoršuje FCR. Siegerstetter et al. (2017) pak pozoroval negativní korelaci mezi

koncentrací *L. crispatus* v trusu a RFI kuřat samičího pohlaví. Spojení některých laktobacilů se zhoršenou efektivitou krmení popisuje i Stanley et al. (2016), který zároveň uvádí, že tento vliv byl způsoben zejména zvýšením příjmu potravy u kuřat přikrmovaných laktobacily. Popsané protichůdné vlivy různých laktobacilů dobře ilustrují, proč je třeba sledovat vliv bakterií na kondici zejména na úrovni bakteriálních druhů. Přesto však většina studií uvádí výsledky na úrovni rodů. Dále je vždy třeba rozlišovat, jaký ukazatel kondice byl zvolen a ve kterém segmentu GIT bylo bakteriální složení analyzováno (kvůli odlišnostem ve složení mikrobioty jednotlivých částí GIT – viz kap. 2.3).

Ve voleti kuřat má na tělesnou váhu pozitivní vliv *Ruminococcus* a *Faecalibacterium*, naopak negativní vliv mají *Actinobacteria*, *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* (Han et al. 2016). V duodenu mohou mít pozitivní vliv na efektivitu krmení kuřat bakterie z kmene *Fusobacteria* (Yan et al. 2017). V ileu byl pozorován pozitivní vliv bakterií rodu *Spirochaeta* a *Bifidobacterium* na váhu (Han et al. 2016) nebo *Clostridium lactatifermentans* a *E. coli* na FCR (Torok et al. 2011). Naopak špatný vliv na váhu může mít *Streptococcus* (Han et al. 2016). Nejvíce studií se zabývalo korelacemi mezi kondicí a koncentrací různých bakterií ve slepých střevech (Stanley et al. 2016; Lee et al. 2017; Yan et al. 2017; Du et al. 2020; Siegerstetter et al. 2017). Ty odhalily prospěšný vliv bakterií z kmene *Tenericutes* na váhu samičích kuřat, nebo *Cronobacter* a *Faecalibacterium* na váhu samčích kuřat. Vyšší efektivita krmení (měřená jako FCR nebo RFI) může být spojena s vyšší koncentrací *Enterobacteriaceae*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides coprophilus*, *Ruminococcus*, *Akkermansia*, *Veillonella dispar*, *Prochlorococcus marius*, nebo s koncentrací již zmíněných druhů laktobacilů (*L. delbrueckii*, *L. oris* a *L. reuteri*). Naopak špatný vliv na efektivitu krmení byl pozorován u bakterií *Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Parabacteroides distasonis*, *Thermobispora bispora*, *Blautia*, *Campylobacter avium*, *Helicobacter pullorum* nebo u některých gamma-proteobakterií. Na váhu mohou mít negativní vliv *Oscillospira*, *Anaerofilum*, *Clostridium hungatei*, *Clostridium methylpentosum* nebo *Rhizobium*.

Pro zoologický výzkum mají význam zejména výsledky studií, které hledají možné korelace mezi kondicí a zastoupením určitých bakterií v trusu, neboť sběr trusu je na rozdíl od odebírání vzorků střeva neinvazivní. V případě, že by se podařilo určit, které druhy bakterií jsou spojeny s dobrou nebo špatnou kondicí, mohla by detekce těchto bakterií sloužit jako ukazatel kondice. Singh et al. (2012) porovnával fekální mikrobiotu kuřat s vysokou a nízkou efektivitou krmení. Kuřata s vysokou efektivitou měla více *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae*, *Synergistaceae* a *Ruminococcaceae*. Naopak kuřata s nízkou efektivitou krmení měla více *Fusobacteriaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Rhizobiaceae*, *Vibrionaceae* a *Campylobacteraceae*. Zvýšená koncentrace posledních dvou zmíněných není překvapivá vzhledem k tomu, že *Vibrio* a *Campylobacter jejuni* jsou u ptáků patogenní. Dále měla kuřata s lepší efektivitou krmení zvýšenou koncentrací gamma-proteobakterií, zatímco kuřata s horší efektivitou měla více epsilon-proteobakterií.

Podobnou studii provedl i Siegerstetter et al. (2017), jen s tím rozdílem, že efektivitu krmení měřil pomocí RFI místo FCR. Lepší RFI bylo spojeno s vyšší koncentrací bakterií rodu *Dorea* v trusu kuřat samičího pohlaví. U samců se nepodařilo nalézt žádnou bakterii, která by sloužila jako ukazatel dobrého RFI. Naopak ukazatelem špatného RFI byl u samců *Acinetobacter* a u samic již zmíněný *Lactobacillus crispatus*. Tato studie je však zajímavá zejména proto, že srovnává vliv bakterií přítomných v ileu, trusu a slepých střevech na RFI kuřat obou pohlaví. Výsledky navíc byly měřeny na dvou různých farmách. Žádná bakterie z žádné části GIT neměla stejný signifikantní vliv na RFI u obou pohlaví a na obou farmách zároveň. Tyto výsledky naznačují, že to, jaký vliv má která bakterie, závisí na mnoha faktorech. Proto je možné za univerzálně platné považovat jen ty vlivy, které byly ověřeny v několika nezávislých studiích, ideálně v těch korelačních i manipulačních.

Na kondici hostitele nemusí mít vliv jen přítomnost nebo nepřítomnost určitých druhů bakterií, ale i celková diverzita střevní mikrobioty. Korelace mezi sníženou diverzitou a rozvojem některých nemocí způsobených střevními patogeny byly již byly popsány v podkapitole o volně žijících druzích ptáků. K podobným závěrům došli i některé studie provedené na drůbeži. Blanchi et al. (2016) uvádí, že narušení střevní mikrobioty může vést k rozvoji oportunistické infekce *Clostridium difficile*, a to i v případě, že změny mikrobioty byly způsobeny podáním antibiotika. Některá antibiotika totiž negativně ovlivňují bakterie produkující enzymy, které hydrolyzují žlučové soli a způsobují transformaci primárních žlučových solí na sekundární. Následný nárůst primárních a pokles sekundárních solí pak nahrává právě *C. difficile* (Blanchi et al. 2016). Nákaza *C. difficile* může být léčena pomocí fekální transplantace (FMT – *fecal microbiota transplantation*) (Berg et al. 2020), což se však u ptáků příliš často neprovádí.

Zatímco pozitivní vliv diverzity mikrobioty na schopnost odolávat různým infekcím je v literatuře považován za jasný fakt, studie zabývající se jejími vlivy na růst nebo efektivitu krmení hostitele mají velmi různorodé výsledky (Diaz Carrasco et al. 2019). Korelace vychází různě nejen mezi jednotlivými studiemi, ale i mezi různými oddíly GIT sledovanými v rámci jedné studie. Pozitivní korelace mezi diverzitou a FCR byla zaznamenána ve voleti a ileu (Han et al. 2016), naopak negativní korelace v duodenu (Yan et al. 2017) nebo v cékách (Han et al. 2016).

3.3. Výsledky manipulačních studií na drůbeži

Velkým problémem korelačních studií je to, že z jejich výsledků nelze určit kauzalitu pozorovaného vztahu. Obvykle tedy nevíme, zda složení mikrobioty ovlivnilo kondici hostitele, kondice ovlivnila mikrobiotu, nebo jestli bylo obojí ovlivněno dalším neznámým faktorem. Pro určení kauzality je proto potřeba studovat mechanismy působení jednotlivých bakterií a provádět manipulační experimenty, ve kterých se složení mikrobioty uměle ovlivní. Mechanismy působení střevních bakterií

na kondici hostele jsou však často studovány v *in vitro* modelech nebo v savčích modelech, a proto s aplikací výsledků těchto studií na ptáky musíme být opatrní.

Další možností studia vlivu mikrobioty na kondici ptáků je zaměřit se na účinky patogenních bakterií. Zatímco korelační studie jsou obvykle založeny na celkové analýze střevní mikrobioty a následném hledání souvislostí mezi jednotlivými bakteriemi a kondičními znaky, studie zaměřené na účinky patogenních bakterií se naopak soustředí na jeden nebo několik málo druhů bakterií. Detailně studují jejich vliv na zdravotní stav a další složky kondice. Ptáci hostí široké spektrum patogenních střevních bakterií, proto kompletní analýza všech jejich účinků není v rozsahu této práce možná. Publikované práce na toto téma jsou však dobře shrnuty například v review Benskin et al. (2009). Proto se tato práce nebude mechanismům vlivu patogenních bakterií na kondici příliš věnovat.

Velice zajímavým zdrojem informací jsou však již zmíněné manipulační studie. Jednou z metod manipulace střevní mikrobioty je fekální transplantace. Ač je výše uvedeno, že se FMT u ptáků běžně nevyužívá k léčebným účelům, pro vědecké účely někdy využívána je. Metzler-Zebeli et al. (2019) transplantovali fekální mikrobiotu kuřat s vysokou efektivitou krmení (měřena jako RFI) kuřatům s různou hodnotou efektivity krmení. Transplantace u příjemců způsobila mnoho změn, ale RFI nijak výrazně neovlivnila. V cékách se příjemcům zvýšila koncentrace bakterií rodu *Ruminococcus* a *Dorea* a bakterií ze skupiny *Lachnospiraceae*, a naopak se snížila koncentrace laktobacilů a *Bacillaceae*. Mikrobiota jejuna nebyla FMT signifikantně ovlivněna. Zato však došlo ke změnám v profilu mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA – *short chain fatty acids*) v olete. Tyto změny byly pravděpodobně způsobeny tím, že transplantát obsahoval málo laktobacilů, které jsou v horní části GIT významným producentem některých SCFA.

Rantala a Nurmi (1973) provedli pokus, pomocí kterého se snažili zjistit, proč jsou kuřata náchylnější vůči nákaze bakterií *Salmonella infantis* než dospělé slepice. Kuřatům těsně po vylíhnutí přidali do volete obsah volete dospělých slepic. Tato kuřata pak byla výrazně úspěšnější v boji proti nákaze *S. infantis* než kuřata z kontrolní skupiny. Přibližně 70 % nakažených ptáků s přidavkem dospělého obsahu volete se vyléčilo, zatímco z kontrolní skupiny žádný. Autoři předpokládají, že tento rozdíl byl způsoben tím, že kuřata těsně po vylíhnutí ještě nemají dovyvinutou střevní mikrobiotu, a proto se hůře brání patogenním střevním bakteriím. Zde by však teoreticky nemuselo jít jen o vliv diverzity střevní mikrobioty, ale i o vliv imunitního systému, který u mláďat nemusí být plně vyvinut. Pozitivní vliv diverzity střevní mikrobioty na boj proti patogenům (a hlavně příležitostným patogenům) však podporuje i klasická teorie ekologického ekvilibria, která říká, že ve stabilním ekosystému jsou obsazeny všechny niky, což eliminuje oportunní patogeny (Blanchi et al. 2016).

Nejčastější metodou manipulace střevní mikrobioty v hospodářském výzkumu je aplikace probiotik. Probiotika jsou životaschopné mikroorganismy využívané jako doplňky stravy s prokazatelně

prospěšným vlivem na zdraví (Stanley 2014). Výsledky studií zaměřených na vliv probiotik mohou být velmi rozdílné, což je způsobeno především rozdílnou dávkou, frekvencí nebo způsobem podávání probiotik, dále věkem a odlišnostmi ve složení mikrobioty hostitele, nebo environmentálními stresovými faktory (Aliakbarpour et al. 2012). Možné pozitivní vlivy některých bakterií začaly být intenzivně studovány po zavedení zákazu používání antibiotik k podpoře růstu drůbeže a ukázalo se, že v určitých případech mohou mít probiotika obsahující laktobacily dokonce lepší vliv na kondici než dříve používaná antibiotika (např. Hossain et al. 2015; Bahrapour et al. 2020). Mezi bakterie, které se používají jako probiotika patří především bakterie rodu *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* a *Bifidobacterium*. Dále se jako probiotikum často používá mikroskopická houba *Saccharomyces cerevisiae*. Studií, které popisují pozitivní vlivy různých probiotik na jednotlivé kondiční parametry, existuje velké množství. Proto je následující podkapitola spíše stručným přehled možných účinků hlavních probiotik než komplexním shrnutím výsledků všech publikovaných studií. Navíc některé studie používají vícedruhová probiotika. Takové studie však z pohledu této práce mají jen malý význam, neboť není možné určit, která bakterie měla jaký vliv. Proto výsledky těchto studií nejsou v následujícím textu zahrnuty.

3.3.1. Nejčastěji používaná probiotika

Lactobacillus je rod gram-pozitivních bakterií ze skupiny Firmicutes. Pro řád *Lactobacillales* je typická fermentace, jejímž hlavním produktem je kyselina mléčná (Madigan et al. 2019). Laktobacily jsou nejčastější složkou probiotik používaných v experimentech (Stanley et al. 2014). Pozitivní vliv na přírůstek váhy (BWG) byl pozorován v několika manipulačních studiích, ve kterých byly použity různé druhy laktobacilů – *L. bulgaricus* (Apata 2008), *L. acidophilus* (Hossain et al. 2015; Jin et al. 1998), *L. fermentum* (Sefcova et al. 2021) a také u směsi *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. crispatus* a *L. brevis* (Jin et al. 1998). Jiné studie však ukázaly, že přidání některých druhů laktobacilů mělo nesignifikanční nebo žádný vliv na BWG kuřat – *L. fermentum* (Capcarova et al. 2010), *L. acidophilus* (Gheorghe et al. 2020). Po přidání *L. agilis* do stravy sice nebyl pozorován rychlejší nárůst váhy, ale došlo ke snížení FCR, což znamená, že se zvýšila efektivita krmení (Szczurek, Alloui, a Jozefiak 2018). Tento pozitivní vliv byl pozorován i u *L. acidophilus* (Hossain et al. 2015). Probiotikum složené z *L. crispatus*, *L. salivarius* a *L. oris* zlepšilo BWG a FCR i u křepelky japonské (*Coturnix Coturnix Japonica*). Kromě celkové tělesné váhy bývá někdy měřena i hmotnost jednotlivých orgánů, např. jater, sleziny nebo Fabriciovy burzy. Hossain et al. (2015) pozoroval, že se po přidání laktobacilů do stravy zvětšila Fabriciova burza, ale v dalších třech studiích nebyl zaznamenán žádný vliv laktobacilů na váhu sledovaných orgánů (Gheorghe et al. 2020; Jin et al. 1998; Szczurek et al. 2018).

Enterococcus je rod gram-pozitivních koků, který patří stejně jako laktobacily do řádu *Lactobacillales* a patří tedy mezi Firmicutes (Madigan et al. 2019). Vliv na kondici ptáků byl studován

zejména u *E. faecium* a *E. faecalis*. *E. faecium* je častou součástí komerčních probiotik pro drůbež. Kromě již zmíněné studie na lejskách (Moreno et al. 2003) byly pozitivní vlivy této bakterie sledovány i v mnoha studiích provedených na kuřatech. Nejčastěji pozorovanými efekty jsou zrychlení růstu (Capcarova et al. 2010; Cao et al. 2013), které je lineárně závislé na podané dávce (Gheisar et al. 2016; Lan et al. 2017) a zlepšení FCR (Lan et al. 2017). Oba tyto vlivy byly prokázány i u kuřat, u kterých *E. faecium* nebyl přidán do stravy, ale byl aplikován injekcí do amniotického sáčku vejce (Castaneda et al. 2020). Zrychlení růstu bylo pozorováno i u krůty domácí (Marcinakova et al. 2005). V některých studiích ke zrychlení růstu nebo zlepšení FCR nedošlo (Luo et al. 2013; Ozcan et al. 2003), ale negativní vlivy *E. faecium* na tyto parametry nebyly pozorovány nikdy. Luo et al. (2013) pozoroval, že přidání *E. faecium* do stravy zvýšilo relativní hmotnost Fabriciovy burzy a sleziny kuřat. Zatímco u *E. faecium* bývají popisovány pozitivní vlivy na hostitele, u *E. faecalis* je tomu spíše naopak. *E. faecalis* je příležitostný patogen, který u kuřat může způsobovat syndrom plicní hypertenze, který má za následek poškození srdce (Tankson et al. 2001). Přesto byly provedeny pokusy, jejichž účelem bylo zhodnotit potenciální probiotické vlastnosti *E. faecalis*. Nebyl však pozorován žádný vliv na kvalitu a počet snesených vajec (Song et al. 2019). Výsledky *in vitro* experimentů naznačovaly schopnost *E. faecalis* potlačit *Campylobacter jejuni*, což však v *in vivo* kuřecím modelu nebylo potvrzeno (Robyn et al. 2013). Přidání *E. faecalis* do stravy ale může způsobit změny v zastoupení některých střevních bakterií – byl pozorován nárůst bakterií ze skupiny Proteobacteria a snížení počtů bakterií ze skupiny Firmicutes (Song et al. 2019).

Rod *Lactococcus* byl původně součástí rodu *Streptococcus* a teprve nedávno byl vyčleněn jako samostatný rod. Zahrnuje gram-pozitivní koky, které fermentují laktózu na kyselinu mléčnou (Madigan et al. 2019). Jelikož některé jiné bakterie produkující kyselinu mléčnou jsou používány jako probiotika a jsou schopné produkovat bakteriociny (viz dále), byly probiotické vlastnosti předpokládány i u bakterií rodu *Lactococcus* (Brzoska et al. 2012). Pozitivní vliv na zdravotní stav kuřat byl pozorován u *L. lactis* a *L. garvieae*, což je překvapivé, neboť *L. garvieae* je patogenní u ryb (Brzoska et al. 2012; Zhang et al. 2016).

Bakterie rodu *Bacillus* patří stejně jako všechny předchozí do kmene Firmicutes a jsou tedy gram-pozitivní. Avšak na rozdíl od bakterií z řádu *Lactobacillales* jsou aerobní, tvoří spóry a produkuje bacitracin (Madigan et al. 2019). Jako probiotikum se nejčastěji používá *Bacillus subtilis*. Bahrampour et al. (2020) studoval vliv přidání *B. subtilis* do stravy kuřat a zjistil pozitivní vliv na BWG a efektivitu krmení. Abdel-Moneim, et al. (2020) přidávali různé koncentrace *B. subtilis* ve formě spór křepelkám japonským. Pozorovali lineární zlepšení BWG i FCR v závislosti na podané dávce. Zlepšení BWG bylo zaznamenáno i u kachny domácí (Guo et al. 2016). V této studii navíc došlo vlivem přidání *B. subtilis* do stravy i k nárůstu váhy Fabriciovy burzy. Všechny tyto vlivy byly studovány při orálním podávání

probiotika, tedy jeho přimícháním do stravy. Naopak *in ovo* aplikace *B. subtilis* může snížit účinnost líhnutí vajec (Triplett et al. 2018), a proto se nedoporučuje. Kromě *B. subtilis* může být pro probiotické účely použit i *Bacillus coagulans*, který při orálním podávání dokáže zlepšit efektivitu krmení nebo zvýšit koncentraci bakterií produkujících kyselinu mléčnou (Bahrapour et al. 2020).

Bifidobacterium je rod spadající pod Actinobacteria a patří tedy mezi gram-pozitivní bakterie (Madigan et al. 2019). Jako probiotikum se používají *B. bifidum*, *B. thermophilum*, *B. animalis*, *B. breve*, *B. longum* a *B. infantis* (El-Sharkawy et al. 2020; Abdel-Moneim, Elbaz, et al. 2020; Kobayashi et al. 2002). El-Sharkawy et al. (2020) přidával bifidobakterie kuřatům do stravy, Abdel-Moneim et al. (2020) je aplikoval injekcí do vejce. Téměř u všech uvedených druhů bifidobakterií byl prokázán pozitivní vliv na BWG, jen u *B. longum* jsou výsledky rozporuplné a u *B. thermophilum* nebyl vliv na BWG studován (El-Sharkawy et al. 2020; Abdel-Moneim, Elbaz, et al. 2020). *Bifidobacterium animalis* může být aplikováno i injekcí do vejce (Triplett et al. 2018; Abdel-Moneim, Elbaz, et al. 2020).

Dalšími bakteriemi, které se někdy používají jako probiotika jsou například *Clostridium butyricum*, *Clostridium lactatifermentans*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Bacillus licheniformis* a další. Z mikroskopických hub je to pak především kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*, jejíž přidání do stravy moduluje kondici hostitele podobně jako výše vyjmenované bakterie. U kuřat může například zlepšit BWG a efektivitu krmení, nebo snížit mortalitu (Abdel-Latif et al. 2018). Kromě probiotik lze do stravy přidávat i prebiotika, tedy látky, které podporují zdravé složení mikrobioty.

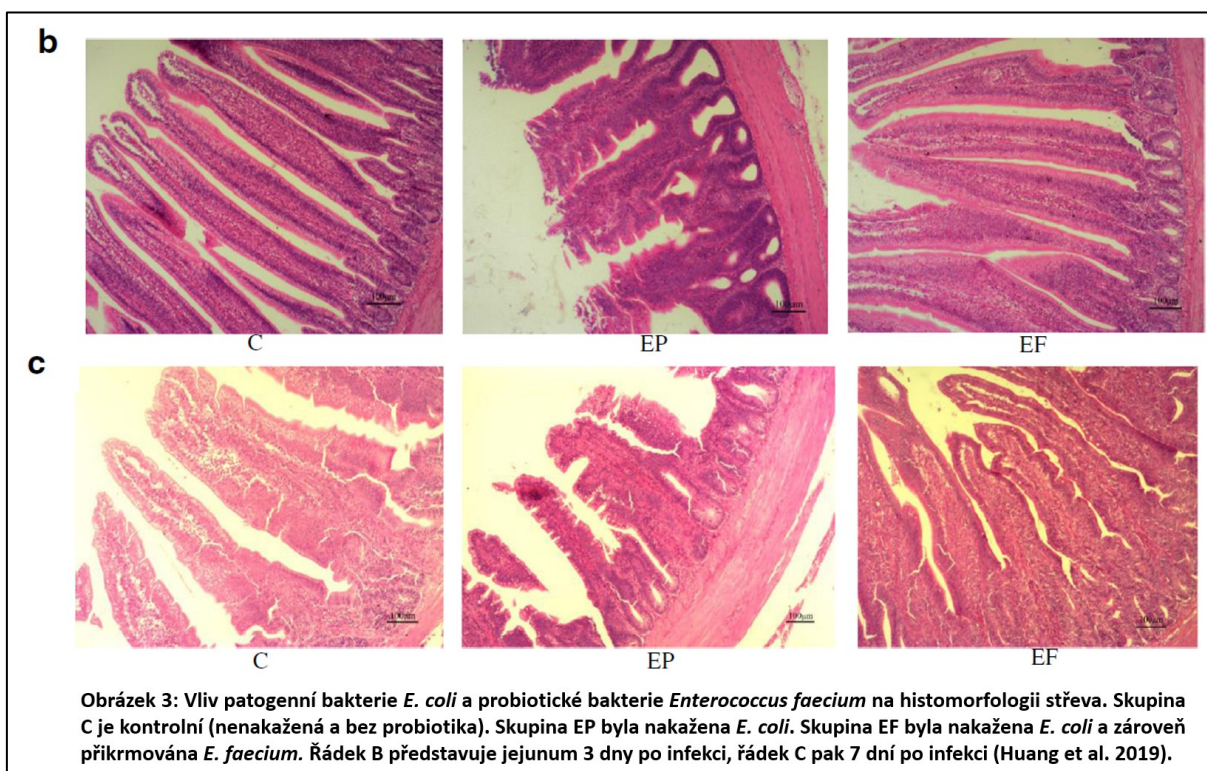
3.4. Mechanismy ovlivnění kondice bakteriemi

V předchozí podkapitole byly vyjmenovány mikroorganismy, které se v zemědělské praxi používají jako probiotika nejběžněji. Z hlediska biologického poznání však samotné popisování účinků probiotik není tak hodnotné, jako studium možných mechanismů, kterými probiotika kondici ovlivňují. Zrychlení růstu, zvýšení efektivity krmení nebo zvýšení odolnosti vůči patogenům mohou být způsobeny tím, že bakterie ovlivňují histomorfologii střeva a produkci některých látek.

3.4.1. Ovlivnění histomorfologie střeva a produkce mucinů

Jeden z možných důvodů toho, proč u ptáků přikrmovaných některými probiotiky dochází k rychlejšímu přibírání na váze, je spojen s histomorfologií střeva. Kuřata s přídatkem těchto probiotik ve stravě totiž mohou mít vyšší klky, což zvyšuje plochu, přes kterou mohou být živiny vstřebávány. Tento vliv byl pozorován u několika druhů laktobacilů (J. Han et al. 2018; Sefcova et al. 2021), u *Enterococcus faecium* (Cao et al. 2013), u několika druhů rodu *Bacillus* (Bahrapour et al. 2020; Guo et al. 2016) nebo u *Saccharomyces cerevisiae* (Abdel-Latif et al. 2018). Například *Enterococcus faecium* může u hostitele způsobit i vyšší hustotu klků (Luo et al. 2013). Za pozitivní se obvykle považuje i nižší hloubka střevních krypt, i když zde už se studie úplně neshodují. Abdel-Moneim et al. (2020) uvádí, že

mělčí krypty a delší klky jsou spojeny se sníženou obnovou buněk, delší životností enterocytů, a tedy celkově lepším stavem střeva. Huang et al. (2019) ale naopak píše, že snižující se hloubka krypty indikuje rekonstrukci klků tím, že je zvýšena regenerační rychlost enterocytů. Sefcova et al. (2021) překvapivě uvádí sníženou hloubku střevních krypt jako jeden z negativních vlivů způsobených nákazou *Campylobacter jejuni*. A Metzler-Zebeli et al. (2019) dokonce zpochybňuje i výhodnost vyšších klků tím, že nižší povrch střeva (tedy nižší klky a mělčí krypty) jsou spojeny s nižší energetickou náročností na údržbu, a tím i zvýšením efektivity krmení. Tento názor však není ostatními autory podporován.



Možným mechanismem popsaných změn v délce klků a hloubce krypt se zabýval Luo et al. (2013), který popsal změny v expresi některých cytoskeletárních proteinů v mukóze střeva - např. plastinu, villinu, několika profilinů nebo cytoskeletálního beta-aktinu. Tyto proteiny hrají zásadní roli v maturaci, migraci a obnově epiteliálních buněk, proto změny v jejich expresi mohou souviset se změnami struktury střeva a zvětšením absorpčního povrchu (Luo et al. 2013). Huang et al. (2019) zase u kuřat krmených *E. faecium* zjistil zvýšenou expresi mRNA pro claudin-1 a occludin, což jsou proteiny, které jsou základem těsných spojení zajišťujících integritu epitelů. V tomto případě tedy probiotikum napomohlo lepší integritě střevního epitelu, což může omezit průnik patogenních bakterií do těla.

Některá probiotika mohou zvýšit produkci mucinů, například přes stimulaci exprese genu MUC2, jehož produktem je protein mucin-2 (Huang et al. 2019). Muciny jsou hlavní složkou ochranné vrstvy střevní sliznice a MUC2 je hlavní mucin, produkováný pohárkovými buňkami střevního epitelu. Muciny díky svému vysokému obsahu cukrů a živin představují ideální prostředí pro proliferaci specifické mikrobioty (Aliakbarpour et al. 2012). Například laktobacily se dokáží vázat na specifická

receptorová místa pro stimulaci exprese MUC2 genu (Aliakbarpour et al. 2012). Naopak patogenní kmen *Escherichia coli* může expresi MUC2 snížit (Huang et al. 2019). Toto vše nasvědčuje tomu, že vyšší sekrece mucinů je pozitivním vlivem probiotik a nižší sekrece negativním vlivem patogenních bakterií. To ovšem rozporuje Luo et al. (2013), který uvádí, že kuřata krmená *E. faecium* měla sníženou expresi genů pro muciny, což mělo za následek slabší mukózní vrstvu. Ta pak méně brání vstřebávání živin, což může zlepšit jejich příjem a tím i efektivitu krmení. Tato dvě tvrzení se však nemusí nutně vylučovat, neboť může opět jít o trade-off mezi růstem (resp. efektivitou vstřebávání živin) a imunitním systémem (tloušťkou ochranné mukózní vrstvy).

3.4.2. Změny hostitelského metabolismu a koncentrace látek v krvi

Vliv probiotik na váhu nebo efektivitu krmení může být spojen i se změnou koncentrace určitých látek v krevní plazmě. Yazhini et al. (2018) uvádí, že *Lactobacillus lactis* i *Bifidobacterium bifidum* mohou zvýšit koncentraci albuminu, globulinů a HDL, a naopak snížit koncentraci LDL a triglyceridů. Koncentraci triglyceridů může naopak zvýšit *Lactobacillus fermentum*, který také zvyšuje koncentrace bilirubinu a vápníku v krvi (Capcarova et al. 2010). Koncentraci cholesterolu v krvi dokázal snížit *Lactobacillus acidophilus* (Gheorghe et al. 2020), *Enterococcus faecium* (Ozcan et al. 2003) nebo *Bacillus subtilis* (Al-Baadani et al. 2018). To lze vysvětlit tím, že například bakterie z řádu *Lactobacillales* umí metabolicky zpracovávat cholesterol (Yazhini et al. 2018) a inhibovat expresi proteinu NPCIL1 na povrchu enterocytů, který je spojen se vstřebáváním cholesterolu (Huang a Zheng 2010). Metabolismus hostitele může být ovlivněn i změnou koncentrace některých hormonů – např. bifidobakterie nebo *Bacillus subtilis* zvyšují koncentrace hormonů štítné žlázy – thyroxinu a trijodthyroninu (Abdel-Moneim et al. 2020). Tyto hormony jsou spojené s odbouráváním tuků a sacharidů.

Metabolismus hostitele je ovlivněn i tím, že některé složky střevní mikrobioty produkují látky, které hostitel potřebuje (zejména vitamíny, enzymy, mastné kyseliny apod.). Produkce mastných kyselin je jedním z hlavních rysů probiotických bakterií. Mastné kyseliny vznikající při fermentačních procesech (zejména při rozkladu vlákniny) se někdy se označují jako VFA (*volatile fatty acids*) nebo SCFA (*short-chain fatty acids*). Ve slepých střevech kuřat se nejčastěji vyskytuje kyselina octová, máselná a propionová, které mohou sloužit jako zdroj energie pro růst a vývoj střevních buněk (Han et al. 2018). Laktobacily mohou podle výsledků některých studií zvyšovat hladiny VFA (Szcurek et al. 2018; Jin et al. 1998) a to nejen kyseliny mléčné, ale právě i octové, máselné či propionové. Tím může být zrychlen růst hostitele (Guo et al. 2016).

Bacillus subtilis dokáže zvýšit proteolytické, lipolytické a amylolytické aktivity v duodenu (Abdel-Moneim et al. 2020), *Bifidobacteriaceae*, *Bacteroidaceae* a *Lactobacillaceae* umí rozkládat celulózu (Waite a Taylor 2014). Aktivity proteinů jsou často měřeny pomocí analýzy střevního

proteomu, což neumožňuje rozlišit, jestli bakterie daný enzym samy produkují, nebo jen stimulují hostitelskou syntézu. Navíc ne všechny změny probíhají přímo ve střevě. Zheng et al. (2016) zjistil, že probiotikum *Enterococcus faecium* působí na proteomické funkce jater, konkrétně stimuluje intenzivnější metabolismus vitamínů, biosyntézu sloučenin obsahujících síru a tetramerizaci proteinů. Efektivita krmení může být ovlivněna také změnou apetitu. Jak bylo popsáno v kapitole 3.3, laktobacily jsou často spojeny se zvýšeným příjmem potravy, což zhoršuje FCR (Stanley et al. 2016). Ovlivnění příjmu potravy pravděpodobně probíhá přes gut-brain axis (Metzler-Zebeli et al. 2019) a je tedy důkazem toho, že bakterie ovlivňují i mozkovou činnost.

Některé studie naznačují, že probiotika mohou ovlivnit koncentraci a aktivitu antioxidantních enzymů. Například podání bifidobakterií kuřatům vedlo ke zvýšení koncentrace superoxid dismutázy (Abdel-Moneim et al. 2020). Podobně podání *Bacillus subtilis* křepelkám japonským zvýšilo aktivitu katalázy, a to přímo úměrně podané dávce probiotika (Abdel-Moneim et al. 2020). Nárůst antioxidantů v krvi po podání probiotika pozorovala i Capcarova et al. (2010).

3.4.3. Potlačení patogenů a ovlivnění imunitní odpovědi hostitele

Mikrobiota GIT slouží i jako antiinfekční bariéra. Pro některé probiotické bakterie byla prokázána schopnost omezit růst patogenů nebo potlačit jejich schopnost proniknout ze střev do těla. Například výše popsaná produkce mastných kyselin laktobacily snižuje pH ve střevech, což dokáže omezit počty bakterií rodu *Escherichia* (Hossain et al. 2015; Gheorghe et al. 2020), *Staphylococcus* (Gheorghe et al. 2020) nebo *Salmonella* (Casarin et al. 2015). Van der Wielen et al. (2000) uvádí, že koncentrace VFA negativně koreluje se zastoupením bakterií ze skupiny *Enterobacteriaceae* ve slepých střevech kuřat. V in vitro experimentu bylo následně dokázáno, že zvýšená koncentrace VFA je příčinou redukce počtů těchto bakterií, nikoliv důsledkem. VFA v nedisociované formě totiž mohou pronikat do buňky, tam disociovat, a tak snižovat intracelulární pH, což poškozuje buňku (van der Wielen et al. 2000).

Podobně jako laktobacily i *Enterococcus faecium* může způsobit snížení počtů *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* (Cao et al. 2013) a *Salmonella* sp. (Gheisar et al. 2016). U krůt pak *E. faecium* dokáže snížit počty *E. coli* a *Pseudomonas* sp. (Marcinakova et al. 2005) a u pštrosů stafylokoků a bakterií blízce příbuzným rodu *Pseudomonas* (Laukova et al. 2015). Výsledky in vitro experimentu ukázaly možnou schopnost *E. faecium* potlačit bakterie rodu *Listeria* (Strompfova a Laukova 2007), ale in vivo tato schopnost zatím nebyla studována. Bifidobakterie dokážou potlačit *E. coli* (Kobayashi et al. 2002) a salmonelu (El-Sharkawy et al. 2020). Další takové interakce shrnuje např. Stanley et al. (2014).

Produkce látek snižujících pH nebo produkce bakteriocinů (např. enterokoků (Strompfova a Laukova 2007)), obvykle ovlivňují růst jiných bakterií ve svém okolí v okruhu 5-15 mm (Mandal et al. 2021). Jiné účinky mohou být více globální – např. *Enterococcus faecium* podporuje vyšší diverzitu

mikrobioty (Luo et al. 2013), což eliminuje oportunní patogeny (Blanchi et al. 2016). Důležitou vlastností probiotických bakterií je také schopnost vazby na epiteliální buňky (El-Sharkawy et al. 2020) a schopnost autoagregace, která tomu pomáhá. Adheze k epiteliálním buňkám je pro probiotické i patogenní bakterie důležitá pro udržení se ve střevě navzdory peristaltickým pohybům (Mandal et al. 2021; El-Sharkawy et al. 2020). Bakterie ve střevě soupeří o vazebná místa na enterocytech, i o zdroje (van der Wielen et al. 2000).

Pozitivní vliv probiotik na kondici může spočívat i v tlumení účinků patogenních bakterií, pokud je jimi kuře nakaženo. Například patogenní bakterie *Campylobacter jejuni* způsobuje úbytek váhy hostitele a zmenšení střevních klků, přičemž oba tyto negativní vlivy mohou být výrazně potlačeny při léčbě probiotikem *Lactobacillus fermentum* (Sefcova et al. 2021). To může být způsobeno jak přímým snížením počtů *C. jejuni* díky kompetici s *L. fermentum*, tak i tím, že tyto bakterie na hostitele působí protichůdnými vlivy. Podobně i zhoršená morfologie střeva způsobená oportunně patogenními kmeny *E. coli* byla významně napravena, pokud byl nakaženým kuřatům do stravy přidán *E. faecium* (Huang et al. 2019). V tomto experimentu byl zároveň po přidání *E. faecium* snížen nárůst počtů patogenní *E. coli* v játrech díky snížené migraci přes střevní stěnu. To může být důsledkem již zmíněného zlepšení integrity střevního epitelu nebo důsledkem zvýšené exprese genů pro muciny, které tvoří ochranou bariéru (L. Huang et al. 2019).

Kobayashi et al. (2002) uvádí, že *Bifidobacterium thermophilum* může významně snížit mortalitu kuřat nakažených patogenním kmenem *E. coli*, a to i v případě, že se probiotikum podá tepelně usmrcené nebo enzymaticky rozložené. Zřejmě tedy nejde jen o kompetiční vyloučení patogenů, ale i o aktivaci imunitního systému. Autoři této studie navrhují, že příčinou snížené mortality může být aktivace lymfocytů a makrofágů pomocí probiotika. Podobně i Apata (2008) uvádí, že jiné probiotikum (*Lactobacillus bulgaricus*) může zvýšit počty bílých krvinek. Při experimentálním podávání probiotik jsou často sledovány i hladiny různých prozánětlivých a protizánětlivých cytokinů. Guo et al. (2016) však varuje, že zvýšená nebo snížená exprese jednotlivých cytokinů ve střevě nemůže být interpretována jako jasně prospěšná nebo škodlivá, neboť slizniční imunita je velmi komplexní. Tomu odpovídá i fakt, že změny koncentrace prozánětlivých a protizánětlivých faktorů jsou v různých studiích vnímány odlišně. Například Zheng et al. (2016) uvádí snížení proteinů akutní fáze (APP) jako pozitivní vliv *E. faecium*, neboť došlo k potlačení zánětů. Naopak Abdel-Moneim et al. (2020) považuje zvýšení koncentrace imunoglobulinů vlivem bifidobakterií za prospěšné. Podobný přístup má i Guo et al. (2016), který pozoroval zvýšenou expresi prozánětlivých cytokinů u kachen přikrmovaných *B. subtilis*. Obecně by se dalo říct, že studie provedené na zdravých ptácích považují za žádoucí potlačení zánětů, zatímco studie sledující vliv probiotik na nakažená zvířata považují za žádoucí zvýšení zánětlivé odpovědi.

3.5. Aplikovatelnost výsledků hospodářského výzkumu na volně žijící druhy

Jelikož korelační i manipulační studie jsou prováděny v mnohem větší míře na hospodářských druzích ptáků než na volně žijících druzích, bylo by vhodné aplikovat některé poznatky získané v hospodářsky orientovaném výzkumu i na volně žijící druhy. Navíc experimenty na hospodářských ptácích bývají prováděny na řádově vyšším počtu jedinců než experimenty zabývající se volně žijícími druhy. Zatímco u volně žijících druhů jde obvykle o desítky jedinců, na kuřatech, krůtách nebo křepelkách jsou běžné i experimenty na stovkách jedinců (nejčastěji 200 – 600, výjimečně i přes tisíc). Jak již bylo zmíněno v úvodu této práce, výhodou studia drůbeže je fakt, že tento výzkum je díky své vyšší praktické využitelnosti lépe financován, a nenaráží na tolik na etické problémy. Většina experimentů se provádí na kuřatech, jejichž kondice je důležitá pro produkci masa. Navíc se ukazuje, že u ptáků je vliv složení mikrobioty na kondici nejvýraznější právě u mláďat, zejména v prvních týdnech života (Diaz Carrasco et al. 2019). Pro experimenty (stejně jako pro průmyslový chov) je výhodou i to, že hospodářsky významné druhy ptáků mají prekociální mláďata, která vyžadují výrazně méně péče než mláďata altriciální, a jsou tak vhodná i pro chov v laboratoři (Kohl et al. 2018).

Problémem je ovšem to, že výsledky experimentů provedených na drůbeži nelze vždy vztáhnout i na volně žijící ptáky, a to hned z několika důvodů. Zaprvé, u ptáků je vysoká mezidruhová variabilita ve složení mikrobioty, a navíc většina drůbeže patří do řádu hrabavých (*Galliformes*), což je bazální skupina ptáků. Zadruhé, kuřata jsou v průmyslových chovech obvykle oddělena od dospělých jedinců, proto je u nich snížený vliv rodičů na vývoj mikrobioty. A zatřetí, drůbež je chována v ideálních podmínkách, ptáci mají vždy dostatek potravy, ale totéž neplatí pro druhy žijící ve volné přírodě. Například ze studií provedených na drůbeži se předpokládalo, že v případě infekce bakterií *Campylobacter jejuni* jsou ptáci většinou pouze bezpříznakovými přenašeči. Novější výzkumy však ukazují, že v populaci volně žijících ptáků může *C. jejuni* způsobovat významné snížení kondice a zvýšenou úmrtnost, což je pravděpodobně dáno tím, že nežijí v ideálních podmínkách (Taff a Townsend 2017). Chov v ideálních podmínkách s dostatkem potravy může navíc potlačit již zmíněný trade-off mezi růstem a rozvojem imunitního systému (Dlugošová 2020).

To, že může život v zajetí ovlivňovat střevní mikrobiotu, bylo prokázáno například na papoušcích. Xenoulis et al. (2010) provedl srovnání mikrobioty kloaky papoušků žijících ve volné přírodě a papoušků (stejných druhů) žijících v zajetí. U obou skupin sice dominoval kmen Firmicutes, ale lišilo se zastoupení na úrovni rodů. Zatímco v zajetí tvořil většinu rod *Lactobacillus*, ve volné přírodě to byl *Staphylococcus*. Proteobakterie byly detekovány u 88 % jedinců žijících v zajetí, ale jen u 13 % volně žijících. Ptáci držení v zajetí měli dále vyšší zastoupení gram-negativních bakterií a vyšší celkovou diverzitu kloakální mikrobioty. Naopak Wang et al. (2016), který studoval vzorky trusu divokých, polodivokých a v zajetí chovaných hus indických (*Anser indicus*), dospěl k tomu, že divoké husy mají

diverzitu mikrobioty vyšší než ty chované v zajetí. I zde ve všech skupinách dominoval kmen Firmicutes, u divokých hus zastoupený zejména rodem *Lactococcus*, u polodivokých rodem *Turicibacter*, a u chovaných skupinou *Clostridiaceae*. V zajetí byl zaznamenán výrazný úbytek Proteobacteria, a naopak nárůst Bacteroidetes a Fusobacteria. Významným faktorem ovlivňujícím mikrobiotu hospodářských druhů ptáků je také aplikace antibiotik, čemuž se věnuje následující podkapitola. Pokud domestikace takto ovlivňuje složení střevní mikrobioty, je pravděpodobné, že bude ovlivňovat i to, jaký vliv mají různé složky mikrobioty na kondici hostitele.

3.6. Antibiotika

Významným faktorem ovlivňujícím mikrobiotu hospodářských druhů ptáků je také aplikace antibiotik (Scupham et al. 2008). Některá antibiotika se v zemědělské praxi minulého století běžně podávala v nízkých koncentracích pro podporu růstu a eliminaci patogenů. Jsou to tzv. antibiotika podporující růst (AGP – *antibiotic growth-promoters*), mezi která patří například, bacitracin methylene disalicylate (BMD), virginiamycin, enramycin, avilamycin, tylosin a další (Ward et al. 2019; Hossain et al. 2015; Robinson et al. 2019). AGP tak působila jako významný selekční tlak na složení mikrobioty u hospodářských druhů ptáků. Vzhledem k tomu, že AGP nemají žádný vliv na axenická zvířata, je jasné, že jejich efekt je způsoben interakcemi s mikrobiotou (Dibner a Richards 2005). Obvykle je znám molekulární mechanismus účinku AGP na bakterie, avšak výsledný vliv na složení mikrobioty je neznámý (Robinson et al. 2019), přestože byla AGP používána po mnoho desetiletí. Obecně se udává, že AGP potlačují růst některých patogenních bakterií a naopak podporují (nepřímo) růst bakterií produkujících butyrát a kyselinu mléčnou (Banerjee et al. 2018; Robinson et al. 2019). Vlivy AGP na zastoupení jednotlivých bakterií ve střevě jsou však v publikovaných článcích velmi variabilní.

Kohl et al. (2018) studoval vliv přidání malého množství antibiotika (neomycinu) do stravy podávané mláďatům vrabce domácího (*Passer domesticus*). Zjistil, že antibiotikum způsobilo změny ve složení střevní mikrobioty, zejména pak nárůst koncentrace bakterií rodu *Lactococcus*. U mláďat krmených stravou s antibiotikem se výrazně zvýšila efektivita využití potravy (zde počítána jako převrácená hodnota FCR) a tato mláďata tak rostla průměrně o 12 % rychleji než mláďata z kontrolní skupiny. Hypotéza, že tyto pozitivní vlivy neomycinu spočívají ve zvýšení kapacity trávení, nebyla potvrzena, neboť koncentrace trávicích enzymů nebyla přidáním antibiotika signifikantně ovlivněna. Autoři proto předpokládají, že za zrychlením růstu mláďat krmených neomycinem stojí především snížení energetických požadavků spojených s imunitní reakcí proti patogenním střevním bakteriím, a dále snížení kompetice o živiny mezi hostelem a jeho střevní mikrobiotou.

U drůbeže jsou prokázány pozitivní vlivy mnoha dalších antibiotik. Například přidání antibiotika BMD do stravy kuřat může snížit diverzitu mikroskopických hub v cékách (Robinson et al. 2020) nebo zvýšit expresi genů pro proteiny, které jsou součástí drah spojených s imunostimulací (Ward et al.

2019). Robinson et al. (2019) srovnával účinky pěti AGP na složení mikrobioty cék kuřat. Všechna AGP snížila zastoupení rodu *Lactobacillus*, a naopak zvýšila zastoupení *Ruminococcaceae*, *Clostridiales*, *Romboutsia*, *Escherichia/Shigella* a *Blautia*. Antibiotika na bázi ionoforů (monensin a salinomycin) zvýšila i koncentraci bakterií rodu *Enterococcus*, a naopak snížila koncentraci bakterií rodu *Streptococcus*. Banerjee et al. (2018) srovnával fekální mikrobiotu kuřat krmených stravou se třemi AGP (chlorotetracyklin, virginiamycin, amoxicillin) a těch krmených stravou bez antibiotik. Skupina krmená antibiotiky měla v trusu více bakterií produkujících SCFA (*Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Blautia*, *Coprococcus*, *Bacteroides*), a naopak méně bakterií citlivých na kyselé pH (*Streptococcus*, *Streptomyces*, *Staphylococcus*, *Turicibacter*). Dále byl vlivem AGP v této studii pozorován zvýšený poměr Firmicutes : Bacteroidetes a překvapivě i zvýšená celková diverzita bakterií.

Většina studií však udává, že AGP spíše snižují alfa-diverzitu střevních bakterií hostitele (např. Robinson et al. 2019). Jak bylo ukázáno v předchozích podkapitolách, diverzita může být důležitá pro prevenci oportunistických infekcí, i účinnější boj proti patogenním bakteriím a virům. Na druhou stranu antibiotika mohou eliminovat právě tyto patogenní nebo oportunisticky patogenní druhy bakterií (Dibner a Richards 2005), a díky tomu někdy i eliminovat subklinické infekce. Navíc antibiotika mohou omezit kompetici o zdroje, která probíhá jak mezi různými mikroby, tak i mezi mikroby a hostitelem. Komenzální bakterie totiž sice tvoří některé živiny, které hostitel potřebuje, a podporují rozvoj některých tkání, orgánů a imunitního systému. Na druhou stranu ale kompetují s hostitelem o zdroje, některé bakterie produkují toxické látky, a mohou podporovat zánětlivou reakci. Z hlediska hostitele je tedy potřeba tyto dva protichůdné vlivy správně vyvážit (Dibner a Richards 2005).

To, jaký vliv na mikrobiotu bude určité AGP mít, lze do jisté míry predikovat podle jeho zaměření proti gram-pozitivní nebo gram-negativním bakteriím. Antibiotika účinkující proti gram-negativním bakteriím mohou snížit koncentraci patogenů jako jsou např. *Salmonella*, *Shigella* nebo enteropatogenní *Escherichia coli*, zatímco koncentrace prospěšných bakterií ze skupiny Firmicutes se nezmění, nebo dokonce vzroste (Dibner a Richards 2005). Pozitivní vliv na kondici ptáků však má i mnoho antibiotik, které účinkují především proti gram-pozitivním bakteriím (Robinson et al. 2019).

Počátkem 21. století v Evropě došlo k plošnému zákazu používání AGP, což vedlo k rozvoji výzkumu alternativních způsobů, jak podpořit mikrobiotu, která přispívá k lepší produktivitě chovu (Dibner a Richards 2005). Nejčastěji využívanou možností je v tomto směru aplikace prebiotik (doplňků stravy, které podporují růst a aktivitu prospěšných bakterií) nebo probiotik (viz kap. 3.3.1) (Stanley et al. 2014). Ukazuje se, že ideální je použití probiotik designovaných na míru pro daný hostitelský druh (Ward et al. 2019), která mohou mít podobné nebo dokonce lepší vlivy na kondici hostitele, než AGP (Han et al. 2018). Pro design takových probiotik je však potřeba více porozumět nejen účinkům AGP, ale i účinkům jednotlivých bakterií.

Závěr

Dosavadní znalosti o složení střevní mikrobioty ptáků pochází z velké části ze studií provedených na drůbeži. Ptačí střevní mikrobiota je však velmi variabilní jak na mezidruhové, tak na vnitrodruhové úrovni, a je ovlivněna mnoha faktory. Proto je potřeba věnovat více pozornosti studiu mikrobioty volně žijících ptáků, která se od té drůbeží může výrazně lišit. K tomu nabádají i autoři článků publikovaných v zemědělsky zaměřených časopisech, kteří upozorňují na to, že volně žijící ptáci jsou významnými přenašeči chorob, které postihují drůbež a způsobují tak nemalé finanční škody. Dalším problémem je, že mikrobiota je složena nejen z bakterií, ale i z mikroskopických hub, řas, prvoků a archeí. Naše znalosti těchto složek mikrobioty u ptáků jsou téměř nulové, přestože se předpokládá, že spolu jednotlivé složky významně interagují. Pro komplexní pochopení střevního mikrobiomu jakožto ekosystému by pak bylo užitečné získat poznatky i o složení a fungování střevního viromu. Doposud přitom bylo publikováno jen 20 článků týkajících se ptačího střevního viromu (jsou shrnuty v Francois a Pybus 2020).

Jedním z cílů této práce bylo zaměřit se na zemědělsky orientovaný výzkum a zjistit, jak mohou jeho výsledky ovlivnit biologický výzkum. Zprv se ukázalo, že střevní bakterie hrají roli v trade-off mezi zdravotním stavem a růstem těla. Vysoká diverzita mikrobioty totiž zřejmě podporuje zdraví, ale zároveň do jisté míry limituje růst hostitele. Zadruhé, výsledky korelačních studií provedených na drůbeži ukazují, že signifikantní korelace mezi kondicí a přítomností určité bakterie často vychází v různých populacích (na různých farmách) odlišně, a jsou závislé i na pohlaví a dalších faktorech. To by mělo být bráno v potaz při korelačních studiích na volně žijících ptácích, které obvykle používají velmi nízký počet jedinců. Navíc se ukazuje, že některé změny ve složení mikrobioty jsou jen dočasné (způsobené např. cirkadiánními rytmy, sezónními změnami nebo fyziologickými změnami v důsledku růstu (Berg et al. 2020)). Tomu by tedy měla být přizpůsobena i délka pokusu nebo počet jeho opakování. A zatřetí, tato práce ukázala význam manipulačních studií a *in vitro* studií, které mohou pomoci odhalit mechanismy působení jednotlivých bakterií na hostitele. Znalost těchto mechanismů je potřeba pro určení kauzality vztahů zjištěných v korelačních studiích.

Cílem této práce bylo i vytipovat ty druhy bakterií, které by mohly sloužit jako markery kondice u ptáků. Pro praktické využití ve studiu volně žijících ptáků by bylo užitečné znát, které bakterie jsou vysoce zastoupeny v trusu ptáků s dobrou nebo špatnou kondicí. To by poté mohlo soužit jako jedna z neinvazivních metod měření kondice. Studií zabývajících se korelacemi mezi kondicí a složením fekální mikrobioty je však málo, a opět jsou to především studie provedené na drůbeži. Fekální mikrobiota navíc podléhá pravidelným fluktuacím, které jsou zřejmě způsobeny periodickým vyprazdňováním jednotlivých částí GIT. Přesto lze z trusu minimálně detekovat přítomnost patogenních bakterií jako jsou *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* nebo některé kmeny *Escherichia coli*.

Kromě analýzy fekální mikrobioty lze u volně žijících ptáků provádět i výtěry kloaky nebo ústní dutiny. Kloakální mikrobiota je ve srovnání s tou fekální zřejmě stabilnější a s kondicí někdy koreluje lépe než mikrobiota fekální. Spojení orální mikrobioty s kondicí není dostatečně prostudováno, ale vzhledem k jejímu ovlivnění vnějším prostředím se žádné silné korelace nepředpokládají.

Z bakterií s pozitivním vlivem na kondici se pak jeví jako vhodný marker především *Enterococcus faecium*. Jeho spojení s dobrou kondicí bylo prokázáno u mnoha druhů drůbeže (v korelačních i manipulačních studiích), i u jednoho druhu pěvce. V žádné z těchto studií sice nebyl pro detekci bakterií použit trus, ale vzhledem k tomu, že fekální bakterie pochází ze střev, lze podobné korelace předpokládat i tam. Navíc díky častému používání *E. faecium* v komerčních probioticích jsou celkem dobře prozkoumány i mechanismy jeho působení ve střevě. Podporuje diverzitu střevní mikrobioty, produkuje bakteriociny, a pozitivně ovlivňuje hustotu a délku klků, i integritu střevního epitelu. Díky těmto vlastnostem dokáže omezit životaschopnost některých patogenních bakterií a jejich průnik do těla. Kromě jedné studie, která popsala snížení tloušťky mukózní vrstvy vlivem *E. faecium*, nejsou zaznamenány žádné negativní vlivy této bakterie na kondici ptáků.

Dalším vhodným kandidátem jsou bakterie rodu *Ruminococcus*. Jeho pozitivní vlivy byly popsány v několika korelačních studiích na drůbeži, včetně jedné, která popsala korelaci mezi efektivitou krmení a zastoupením těchto bakterií v trusu. Koncentrace bakterií rodu *Ruminococcus* se navíc často zvyšuje i vlivem podání některých AGP, které zlepšují kondici. Dalším markerem dobré kondici by mohl být i *Bacillus subtilis*. Jeho pozitivní vlivy souvisí především se zvýšením efektivity trávení a vstřebávání živin. *B. subtilis* navíc produkuje bacitracin, který se používá jako AGP a jeho pozitivní vlivy jsou tak poměrně dobře popsány.

Naopak laktobacily, ač jsou nejčastěji používaným probiotikem pro drůbež, se jako vhodný marker kondice volně žijících ptáků nejeví. Rod *Lactobacillus* totiž zahrnuje mnoho druhů, které mohou být při sekvenaci těžko rozlišitelné, a které mají velmi různorodé vlivy na kondici. Korelační studie citované v této práci často poskytují protichůdné informace i o vlivu jednoho a téhož druhu laktobacilů na kondici. Navíc vlivem přidání některých AGP do stravy koncentrace laktobacilů obvykle klesá. Každopádně před použitím jakékoliv střevní bakterie jakožto markeru kondice volně žijících ptáků je potřeba ještě ověřit její pozitivní vlivy na kondici u několika nepříbuzných druhů ptáků.

Literatura

- Abdel-Latif, Mervat A., Mohamed E. Abd El-Hack, Ayman A. Swelum, Islam M. Saadeldin, Ahmed R. Elbestawy, Ramadan S. Shewita, Hani A. Ba-Awad, Abdullah N. Alowaimier, a Hatem S. Abd El-Hamid. 2018. „Single and Combined Effects of Clostridium Butyricum and Saccharomyces Cerevisiae on Growth Indices, Intestinal Health, and Immunity of Broilers". *Animals* 8 (10): 184. <https://doi.org/10.3390/ani8100184>.
- Abdel-Moneim, Abdel-Moneim Eid, Ahmed Mohamed Elbaz, Raafat El-Sayed Khidr, a Faisal Bayoumi Badri. 2020. „Effect of in Ovo Inoculation of Bifidobacterium Spp. on Growth Performance, Thyroid Activity, Ileum Histomorphometry, and Microbial Enumeration of Broilers". *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 12 (3): 873–82. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09613-x>.
- Abdel-Moneim, Abdel-Moneim Eid, Dina A. Selim, Hamdy A. Basuony, Essam M. Sabic, Ahmed A. Saleh, a Tarek A. Ebeid. 2020. „Effect of Dietary Supplementation of Bacillus Subtilis Spores on Growth Performance, Oxidative Status, and Digestive Enzyme Activities in Japanese Quail Birds". *Tropical Animal Health and Production* 52 (2): 671–80. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-02055-1>.
- Al-Baadani, Hani H., Alaeldein M. Abudabos, Saud I. Al-Mufarrej, Ali A. Al-Baadani, a Ibrahim A. Alhidary. 2018. „Dietary Supplementation of Bacillus Subtilis, Saccharomyces Cerevisiae and Their Symbiotic Effect on Serum Biochemical Parameters in Broilers Challenged with Clostridium Perfringens". *Journal of Applied Animal Research* 46 (1): 1064–72. <https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1454325>.
- Aliakbarpour, H. R., M. Chamani, G. Rahimi, A. A. Sadeghi, a D. Qujeq. 2012. „The Bacillus Subtilis and Lactic Acid Bacteria Probiotics Influences Intestinal Mucin Gene Expression, Histomorphology and Growth Performance in Broilers". *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 25 (9): 1285–93. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12110>.
- Angelakis, Emmanouil, a Didier Raoult. 2010. „The Increase of Lactobacillus Species in the Gut Flora of Newborn Broiler Chicks and Ducks Is Associated with Weight Gain". *Plos One* 5 (5): e10463. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010463>.
- Apata, D. F. 2008. „Growth Performance, Nutrient Digestibility and Immune Response of Broiler Chicks Fed Diets Supplemented with a Culture of Lactobacillus Bulgaricus". *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88 (7): 1253–58. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3214>.
- Ardia, D. R. 2005. „Super Size Me: An Experimental Test of the Factors Affecting Lipid Content and the Ability of Residual Body Mass to Predict Lipid Stores in Nestling European Starlings". *Functional Ecology* 19 (3): 414–20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2005.00997.x>.
- Bahrampour, K., M. Afsharmanesh, a M. Khajeh Bami. 2020. „Comparative Effects of Dietary Bacillus Subtilis, Bacillus Coagulans and Flavophospholipol Supplements on Growth Performance, Intestinal Microflora and Jejunal Morphology of Japanese Quail". *Livestock Science* 239 (září): 104089. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104089>.
- Banerjee, Sohini, Abhijit Sar, Arijit Misra, Srikanta Pal, Arindom Chakraborty, a Bomba Dam. 2018. „Increased Productivity in Poultry Birds by Sub-Lethal Dose of Antibiotics Is Arbitrated by Selective Enrichment of Gut Microbiota, Particularly Short-Chain Fatty Acid Producers". *Microbiology-Sgm* 164 (2): 142–53. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000597>.
- Bennett, Darin C., Hein Min Tun, Ji Eun Kim, Frederick C. Leung, a Kimberly M. Cheng. 2013. „Characterization of Cecal Microbiota of the Emu (Dromaius Novaehollandiae)". *Veterinary Microbiology* 166 (1–2): 304–10. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.05.018>.
- Benskin, Clare McW H., Kenneth Wilson, Keith Jones, a Ian R. Hartley. 2009. „Bacterial Pathogens in Wild Birds: A Review of the Frequency and Effects of Infection". *Biological Reviews* 84 (3): 349–73. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00076.x>.
- Berg, Gabriele, Daria Rybakova, Doreen Fischer, Tomislav Cernava, Marie-Christine Champomier Vergès, Trevor Charles, Xiaoyulong Chen, et al. 2020. „Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges". *Microbiome* 8 (1): 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>.

- Blanchi, Julie, Julien Goret, a Francis Megraud. 2016. „Clostridium Difficile Infection: A Model for Disruption of the Gut Microbiota Equilibrium". *Digestive Diseases* 34 (3): 217–20. <https://doi.org/10.1159/000443355>.
- Brzoska, Franciszek, Bogdan Sliwinski, a Krystyna Stecka. 2012. „Effect of Lactococcus Lactis Vs. Lactobacillus Spp. Bacteria on Chicken Body Weight, Mortality, Feed Conversion and Carcass Quality". *Annals of Animal Science* 12 (4): 549–59. <https://doi.org/10.2478/v10220-012-0046-y>.
- Burger, M. F. 1997. „Estimating Lipid and Lean Masses in a Wintering Passerine: An Evaluation of TOBEC". *Auk* 114 (4): 762–69.
- Cao, G. T., X. F. Zeng, A. G. Chen, L. Zhou, L. Zhang, Y. P. Xiao, a C. M. Yang. 2013. „Effects of a Probiotic, Enterococcus Faecium, on Growth Performance, Intestinal Morphology, Immune Response, and Cecal Microflora in Broiler Chickens Challenged with Escherichia Coli K88". *Poultry Science* 92 (11): 2949–55. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03366>.
- Capcarova, M., J. Weiss, C. Hrncar, A. Kolesarova, a G. Pal. 2010. „Effect of Lactobacillus Fermentum and Enterococcus Faecium Strains on Internal Milieu, Antioxidant Status and Body Weight of Broiler Chickens". *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94 (5): e215–24. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01010.x>.
- Casarin, Penha FilhoRafael Antonio, Silvia Juliana Acelas Diaz, Filipe Santos Fernando, Yung-Fu Chang, Raphael Lucio Andreatti Filho, a Angelo Berchieri Junior. 2015. „Immunomodulatory Activity and Control of Salmonella Enteritidis Colonization in the Intestinal Tract of Chickens by Lactobacillus Based Probiotic". *Veterinary Immunology and Immunopathology* 167 (1–2): 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2015.06.006>.
- Castaneda, Claudia D., Dana K. Dittoe, Kelley G. S. Wamsley, Christopher D. McDaniel, Alfred Blanch, Dorthe Sandvang, a Aaron S. Kiess. 2020. „In Ovo Inoculation of an Enterococcus Faecium-Based Product to Enhance Broiler Hatchability, Live Performance, and Intestinal Morphology". *Poultry Science* 99 (11): 6163–72. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.002>.
- Davidson, Gabrielle L., Niamh Wiley, Amy C. Cooke, Crystal N. Johnson, Fiona Fouhy, Michael S. Reichert, Ivan de la Hera, et al. 2020. „Diet Induces Parallel Changes to the Gut Microbiota and Problem Solving Performance in a Wild Bird". *Scientific Reports* 10 (1): 20783. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77256-y>.
- Davis, Andy. 2009. „The Wildlife Leukocytes Webpage: The ecologist's source for information about leukocytes of non-mammalian wildlife species." 2009. <http://wildlifehematology.uga.edu/>.
- Diaz Carrasco, Juan M., Natalia A. Casanova, a Mariano E. Fernandez Miyakawa. 2019. „Microbiota, Gut Health and Chicken Productivity: What Is the Connection?" *Microorganisms* 7 (10): 374. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100374>.
- Dibner, J. J., a J. D. Richards. 2005. „Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and Mode of Action". *Poultry Science* 84 (4): 634–43. <https://doi.org/10.1093/ps/84.4.634>.
- Dlugošová, Sylvie. 2020. „Hematologická variabilita a její souvislost s gastrointestinální mikrobiotou papoušků (Psittaciformes)". Praha: Univerzita Karlova.
- Du, Wenya, Jixian Deng, Zhuliang Yang, Linghu Zeng, a Xiurong Yang. 2020. „Metagenomic Analysis Reveals Linkages between Cecal Microbiota and Feed Efficiency in Xiayan Chickens". *Poultry Science* 99 (12): 7066–75. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.076>.
- Eckburg et al., P. B. 2005. „Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora". *Science* 308 (5728): 1635–38. <https://doi.org/10.1126/science.1110591>.
- Eichhorn, Gotz, a G. Henk Visser. 2008. „Evaluation of the Deuterium Dilution Method to Estimate Body Composition in the Barnacle Goose: Accuracy and Minimum Equilibration Time". *Physiological and Biochemical Zoology* 81 (4): 508–18. <https://doi.org/10.1086/588170>.
- El-Sharkawy, Hanem, Amin Tahoun, Amira M. Rizk, Tohru Suzuki, Walid Elmonir, Eldsokey Nassef, Mustafa Shukry, et al. 2020. „Evaluation of Bifidobacteria and Lactobacillus Probiotics as Alternative Therapy for Salmonella Typhimurium Infection in Broiler Chickens". *Animals* 10 (6): 1023. <https://doi.org/10.3390/ani10061023>.
- FAO. 2014. „Food and Agriculture Organization of the United Nations: Animal Production and Health Division". 2014. http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/backgr_sources.html.

- Fenoglio, S., M. Cucco, L. Fracchia, M. G. Martinotti, a G. Malacarne. 2004. „Shield Colours of the Moorhen Are Differently Related to Bacterial Presence and Health Parameters". *Ethology Ecology & Evolution* 16 (2): 171–80.
- Francois, Sarah, a Oliver G. Pybus. 2020. „Towards an Understanding of the Avian Virome". *Journal of General Virology* 101 (8): 785–90. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001447>.
- Gadau, Alice, Meli'sa S. Crawford, Roman Mayek, Mathieu Giraudeau, Kevin J. McGraw, Corrie M. Whisner, Christina Kondrat-Smith, a Karen L. Sweazea. 2019. „A Comparison of the Nutritional Physiology and Gut Microbiome of Urban and Rural House Sparrows (*Passer Domesticus*)". *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 237 (listopad): 110332. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2019.110332>.
- Ganz, Holly H., Ladan Doroud, Alana J. Firl, Sarah M. Hird, Jonathan A. Eisen, a Walter M. Boyce. 2017. „Community-Level Differences in the Microbiome of Healthy Wild Mallards and Those Infected by Influenza A Viruses". *Msystems* 2 (1): e00188-16. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00188-16>.
- Gheisar, M. Mohammadi, A. Hosseindoust, a I. H. Kim. 2016. „Effects of Dietary Enterococcus Faecium on Growth Performance, Carcass Characteristics, Faecal Microbiota, and Blood Profile in Broilers". *Veterinarni Medicina* 61 (1): 28–34. <https://doi.org/10.17221/8680-VETMED>.
- Gheorghe, A., N. A. Lefter, L. Idriceanu, M. Ropota, a M. Habeanu. 2020. „Effects of Dietary Extruded Linseed And Lactobacillus Acidophilus on Growth Performance, Carcass Traits, Plasma Lipoprotein Response, and Caecal Bacterial Populations in Broiler Chicks". *Italian Journal of Animal Science* 19 (1): 822–32. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1801359>.
- Godoy-Vitorino, Filipa, Ruth E. Ley, Zhan Gao, Zhiheng Pei, Humberto Ortiz-Zuazaga, Luis R. Pericchi, Maria A. Garcia-Amado, et al. 2008. „Bacterial Community in the Crop of the Hoatzin, a Neotropical Folivorous Flying Bird". *Applied and Environmental Microbiology* 74 (19): 5905–12. <https://doi.org/10.1128/AEM.00574-08>.
- Gosler, A. G., a D. Harper. 2000. „Assessing the Heritability of Body Condition in Birds: A Challenge Exemplified by the Great Tit *Parus Major* L. (Aves)". *Biological Journal of the Linnean Society* 71 (1): 103–17. <https://doi.org/10.1006/bijl.1999.0432>.
- Gosler, Ag. 1991. „On the Use of Greater Covert Molt and Pectoral Muscle as Measures of Condition in Passerines with Data for the Great Tit *Parus-Major*". *Bird Study* 38 (březen): 1–9. <https://doi.org/10.1080/00063659109477061>.
- Gregory, N. G., a J. K. Robins. 1998. „A Body Condition Scoring System for Layer Hens". *New Zealand Journal of Agricultural Research* 41 (4): 555–59. <https://doi.org/10.1080/00288233.1998.9513338>.
- Grond, Kirsten, Brett K. Sandercock, Ari Jumpponen, a Lydia H. Zeglin. 2018. „The Avian Gut Microbiota: Community, Physiology and Function in Wild Birds". *Journal of Avian Biology* 49 (11): e01788. <https://doi.org/10.1111/jav.01788>.
- Gunderson, Alex R., Mark H. Forsyth, a John P. Swaddle. 2009. „Evidence That Plumage Bacteria Influence Feather Coloration and Body Condition of Eastern Bluebirds *Sialia Sialis*". *Journal of Avian Biology* 40 (4): 440–47. <https://doi.org/10.1111/j.1600-048X.2008.04650.x>.
- Guo, Mengjiao, Guangen Hao, Baohua Wang, Ning Li, Rong Li, Liangmeng Wei, a Tongjie Chai. 2016. „Dietary Administration of *Bacillus Subtilis* Enhances Growth Performance, Immune Response and Disease Resistance in Cherry Valley Ducks". *Frontiers in Microbiology* 7 (prosinec): 1975. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01975>.
- Han, Geon Goo, Eun Bae Kim, Jinyoung Lee, Jun-Yeong Lee, Gwideuk Jin, Jongbin Park, Chul-Sung Huh, et al. 2016. „Relationship between the Microbiota in Different Sections of the Gastrointestinal Tract, and the Body Weight of Broiler Chickens". *Springerplus* 5 (červen): 911. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2604-8>.
- Han, Jinfeng, Yongwei Wang, Dan Song, Zixian Lu, Zhenglin Dong, Haijiang Miao, Weiwei Wang, Jianhua He, a Aike Li. 2018. „Effects of *Clostridium Butyricum* and *Lactobacillus Plantarum* on Growth Performance, Immune Function and Volatile Fatty Acid Level of Caecal Digesta in Broilers". *Food and Agricultural Immunology* 29 (1): 797–807. <https://doi.org/10.1080/09540105.2018.1457013>.

- Hird, Sarah M., Cesar Sanchez, Bryan C. Carstens, a Robb T. Brumfield. 2015. „Comparative Gut Microbiota of 59 Neotropical Bird Species". *Frontiers in Microbiology* 6 (prosinec): 1403. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01403>.
- Hossain, M. M., M. Begum, a I. H. Kim. 2015. „Effect of *Bacillus Subtilis*, *Clostridium Butyricum* and *Lactobacillus Acidophilus* Endospores on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Meat Quality, Relative Organ Weight, Microbial Shedding and Excreta Noxious Gas Emission in Broilers". *Veterinarni Medicina* 60 (2): 77–86. <https://doi.org/10.17221/7981-VETMED>.
- Huang, Liqing, Liping Luo, Yaru Zhang, Zhong Wang, a Zhaofei Xia. 2019. „Effects of the Dietary Probiotic, *Enterococcus Faecium* NCIMB11181, on the Intestinal Barrier and System Immune Status in *Escherichia Coli* O78-Challenged Broiler Chickens". *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 11 (3): 946–56. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9434-7>.
- Huang, Ying, a Yongchen Zheng. 2010. „The Probiotic *Lactobacillus Acidophilus* Reduces Cholesterol Absorption through the Down-Regulation of Niemann-Pick C1-like 1 in Caco-2 Cells". *British Journal of Nutrition* 103 (4): 473–78. <https://doi.org/10.1017/S0007114509991991>.
- Chamanza, R., M. J. M. Toussaint, A. M. van Ederen, L. van Veen, C. Hulskamp-Koch, a T. H. F. Fabri. 1999. „Serum Amyloid A and Transferrin in Chicken. A Preliminary Investigation of Using Acute-Phase Variables to Assess Diseases in Chickens". *Veterinary Quarterly* 21 (4): 158–62. <https://doi.org/10.1080/01652176.1999.9695012>.
- Jin, L. Z., Y. W. Ho, N. Abdullah, M. A. Ali, a S. Jalaludin. 1998. „Effects of Adherent *Lactobacillus* Cultures on Growth, Weight of Organs and Intestinal Microflora and Volatile Fatty Acids in Broilers". *Animal Feed Science and Technology* 70 (3): 197–209. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00080-1](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00080-1).
- Kimura, N., M. Yoshikane, a A. Kobayashi. 1986. „Microflora of the Bursa of Fabricius of Chickens". *Poultry Science* 65 (9): 1801–7. <https://doi.org/10.3382/ps.0651801>.
- Kobayashi, C., H. Yokoyama, S. V. Nguyen, T. Hashi, M. Kuroki, a Y. Kodama. 2002. „Enhancement of Chicken Resistance against *Escherichia Coli* Infection by Oral Administration of *Bifidobacterium Thermophilum* Preparations". *Avian Diseases* 46 (3): 542–46. [https://doi.org/10.1637/0005-2086\(2002\)046\[0542:EOCRAE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1637/0005-2086(2002)046[0542:EOCRAE]2.0.CO;2).
- Kohl, Kevin D., Antonio Brun, Seth R. Bordenstein, Enrique Caviedes-Vidal, a William H. Karasov. 2018. „Gut Microbes Limit Growth in House Sparrow Nestlings (*Passer Domesticus*) but Not through Limitations in Digestive Capacity". *Integrative Zoology* 13 (2): 139–51. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12289>.
- Kropáčková, Lucie, Hana Pechmanová, Michal Vinkler, Jana Svobodová, Hana Velová, Martin Těšický, Jean-François Martin, a Jakub Kreisinger. 2017. „Variation between the Oral and Faecal Microbiota in a Free-Living Passerine Bird, the Great Tit (*Parus Major*)". Editoval Roberto Ambrosini. *PLOS ONE* 12 (6): e0179945. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179945>.
- Labocha, Marta K., a Jack P. Hayes. 2012. „Morphometric Indices of Body Condition in Birds: A Review". *Journal of Ornithology* 153 (1): 1–22. <https://doi.org/10.1007/s10336-011-0706-1>.
- Lan, R. X., Y. M. Kim, H. M. Yun, C. M. Nyachoti, a I. H. Kim. 2017. „Effects of *Enterococcus Faecium* on Growth Performance, Blood Parameters, Relative Organ Weight, Breast Muscle Meat Quality, Excreta Microbial Shedding, and Noxious Gas Emission in Broilers." *Journal of Animal Science* 95 (březen): 125–125. <https://doi.org/10.2527/asasmw.2017.259>.
- Laukova, A., A. Kandricakova, a J. Scerbova. 2015. „Use of Bacteriocin-Producing, Probiotic Strain *Enterococcus Faecium* AL41 to Control Intestinal Microbiota in Farm Ostriches". *Letters in Applied Microbiology* 60 (6): 531–35. <https://doi.org/10.1111/lam.12409>.
- Laviad-Shitrit, Sivan, Ido Izhaki, Maya Lalar, a Malka Halpern. 2019. „Comparative Analysis of Intestine Microbiota of Four Wild Waterbird Species". *Frontiers in Microbiology* 10 (srpen): 1911. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01911>.
- Lederberg, J., a A. T. McCray. 2001. „'Ome Sweet 'Omics - A Genealogical Treasury of Words". *Scientist* 15 (7): 8–8.
- Lee, Sang-im, Hyunna Lee, Piotr G. Jablonski, Jae Chun Choe, a Magne Husby. 2017. „Microbial Abundance on the Eggs of a Passerine Bird and Related Fitness Consequences between Urban and Rural Habitats". *Plos One* 12 (9): e0185411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185411>.

- Ley, Ruth E., Micah Hamady, Catherine Lozupone, Peter J. Turnbaugh, Rob Roy Ramey, J. Stephen Bircher, Michael L. Schlegel, et al. 2008. „Evolution of Mammals and Their Gut Microbes". *Science* 320 (5883): 1647–51. <https://doi.org/10.1126/science.1155725>.
- Liu, Hongyi, Zhiwei Chen, Ge Gao, Chenghe Sun, Yudong Li, a Ying Zhu. 2019. „Characterization and Comparison of Gut Microbiomes in Nine Species of Parrots in Captivity". *Symbiosis* 78 (3): 241–50. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00613-7>.
- Lumeij, Jt. 1987. „The Diagnostic-Value of Plasma-Proteins and Nonprotein Nitrogen Substances in Birds". *Veterinary Quarterly* 9 (3): 262–68. <https://doi.org/10.1080/01652176.1987.9694111>.
- Luo, Jianjie, Aijuan Zheng, Kun Meng, Wenhuan Chang, Yingguo Bai, Ke Li, Huiyi Cai, Guohua Liu, a Bin Yao. 2013. „Proteome Changes in the Intestinal Mucosa of Broiler (*Gallus Gallus*) Activated by Probiotic *Enterococcus Faecium*". *Journal of Proteomics* 91 (říjen): 226–41. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.07.017>.
- Maceda-Veiga, Alberto, Jordi Figuerola, Albert Martinez-Silvestre, Gines Viscor, Nicola Ferrari, a Mario Pacheco. 2015. „Inside the Redbox: Applications of Haematology in Wildlife Monitoring and Ecosystem Health Assessment". *Science of the Total Environment* 514 (květen): 322–32. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.004>.
- Madigan, Michael T., Kelly S. Bender, Daniel H. Buckley, W. Matthew Sattley, David A. Stahl, a Thomas D. Brock. 2019. *Brock Biology of Microorganisms*. 15th edition, global edition. New York, NY: Pearson.
- Mancianti, F., S. Nardoni, a R. Ceccherelli. 2002. „Occurrence of Yeasts in Psittacines Droppings from Captive Birds in Italy". *Mycopathologia* 153 (3): 121–24. <https://doi.org/10.1023/A:1014576304894>.
- Mandal, Anita, Rabindra K. Mandal, Yichao Yang, Bhuwan Khatri, Byung-Whi Kong, a Young Min Kwon. 2021. „In Vitro Characterization of Chicken Gut Bacterial Isolates for Probiotic Potentials". *Poultry Science* 100 (2): 1083–92. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.11.025>.
- Marcinakova, M., V. Strompfova, K. Boldizarova, M. Simonova, A. Laukova, a P. Nad. 2005. „Effect of Potential Probiotic *Enterococcus Faecium* Strains on Selected Microflora in Turkeys". *Czech Journal of Animal Science* 50 (8): 341–46. <https://doi.org/10.17221/4175-CJAS>.
- Matsui, Hiroki, Yuko Kato, Tohru Chikaraishi, Masanori Moritani, Tomomi Ban-Tokuda, a Masaaki Wakita. 2010. „Microbial Diversity in Ostrich Ceca as Revealed by 16S Ribosomal RNA Gene Clone Library and Detection of Novel Fibrobacter Species". *Anaerobe* 16 (2): 83–93. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2009.07.005>.
- McDonald, Debra L., Susan Jaensch, Greg J. Harrison, Stacey Gelis, David Brennan, Phil Sacks, a Domenico Bernardo. 2010. „Health and Nutritional Status of Wild Australian Psittacine Birds: An Evaluation of Plasma and Hepatic Mineral Levels, Plasma Biochemical Values, and Fecal Microflora". *Journal of Avian Medicine and Surgery* 24 (4): 288–98. <https://doi.org/10.1647/2004-025.1>.
- McWilliams, Scott R., a Megan Whitman. 2013. „Non-Destructive Techniques to Assess Body Composition of Birds: A Review and Validation Study". *Journal of Ornithology* 154 (3): 597–618. <https://doi.org/10.1007/s10336-013-0946-3>.
- Metzler-Zebeli, Barbara U., Sina-Catherine Siegerstetter, Elizabeth Magowan, Peadar G. Lawlor, Niamh E. O'Connell, a Qendrim Zebeli. 2019. „Fecal Microbiota Transplant From Highly Feed Efficient Donors Affects Cecal Physiology and Microbiota in Low- and High-Feed Efficient Chickens". *Frontiers in Microbiology* 10 (červenec): 1576. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01576>.
- Milani, Juliana F., Heather Wilson, Michael Ziccardi, Rance LeFebvre, a Cheryl Scott. 2012. „Hematology, Plasma Chemistry, and Bacteriology of Wild Tundra Swans (*Cygnus Columbianus*) in Alaska". *Journal of Wildlife Diseases* 48 (1): 212–15. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-48.1.212>.
- Mills, T. K., M. P. Lombardo, a P. A. Thorpe. 1999. „Microbial Colonization of the Cloacae of Nestling Tree Swallows". *Auk* 116 (4): 947–56.
- Moreno, J., V. Briones, S. Merino, C. Ballesteros, J. J. Sanz, a G. Tomas. 2003. „Beneficial Effects of Cloacal Bacteria on Growth and Fledging Size in Nestling Pied Flycatchers (*Ficedula Hypoleuca*) in Spain". *Auk* 120 (3): 784–90. [https://doi.org/10.1642/0004-8038\(2003\)120\[0784:BE0CBO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1642/0004-8038(2003)120[0784:BE0CBO]2.0.CO;2).
- Most, Peter J. van der, Berber de Jong, Henk K. Parmentier, a Simon Verhulst. 2011. „Trade-off between Growth and Immune Function: A Meta-Analysis of Selection Experiments". *Functional Ecology* 25 (1): 74–80. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01800.x>.

- Murphy, Kenneth, a Casey Weaver. 2016. *Janeway's immunobiology*. 9th edition. New York, NY: Garland Science/Taylor & Francis Group, LLC.
- Murray, Maureen H., Emily W. Lankau, Anjelika D. Kidd, Catharine N. Welch, Taylor Ellison, Henry C. Adams, Erin K. Lipp, a Sonia M. Hernandez. 2020. „Gut Microbiome Shifts with Urbanization and Potentially Facilitates a Zoonotic Pathogen in a Wading Bird". *Plos One* 15 (3): e0220926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220926>.
- „NIH Human Microbiome Project". b.r. <https://hmpdacc.org/>.
- Olsen, K. N., M. Henriksen, M. Bisgaard, O. L. Nielsen, a H. Christensen. 2008. „Investigation of Chicken Intestinal Bacterial Communities by 16S rRNA Targeted Fluorescence in Situ Hybridization". *Antonie van Leeuwenhoek* 94 (3): 423–37. <https://doi.org/10.1007/s10482-008-9260-0>.
- Owen, M. 1981. „Abdominal Profile - a Condition Index for Wild Geese in the Field". *Journal of Wildlife Management* 45 (1): 227–30. <https://doi.org/10.2307/3807891>.
- Ozcan, M., M. Arslan, E. Matur, U. Coteliloglu, I. Akyazi, a E. Erarslan. 2003. „The Effects of Enterococcus Faecium Cernelle 68 (SF 68) on Output Properties and Some Haematological Parameters in Broilers". *Medycyna Weterynaryjna-Veterinary Medicine-Science and Practice* 59 (6): 496–500.
- Poplová, Jitka. 2011. „Hematologické metody v zoologii". Praha.
- Proctor, Lita, Jonathan LoTempio, Aron Marquitz, Phil Daschner, Dan Xi, Roberto Flores, Liliana Brown, et al. 2019. „A Review of 10 Years of Human Microbiome Research Activities at the US National Institutes of Health, Fiscal Years 2007-2016". *Microbiome* 7 (únor): 31. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0620-y>.
- Rantala, M., a E. Nurmi. 1973. „Prevention of Growth of Salmonella-Infantis in Chicks by Flora of Alimentary-Tract of Chickens". *British Poultry Science* 14 (6): 627–30. <https://doi.org/10.1080/00071667308416073>.
- Robinson, Kelsy, Sage Becker, Yingping Xiao, Wentao Lyu, Qing Yang, Huiling Zhu, Hua Yang, Jiangchao Zhao, a Guolong Zhang. 2019. „Differential Impact of Subtherapeutic Antibiotics and Ionophores on Intestinal Microbiota of Broilers". *Microorganisms* 7 (9): 282. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090282>.
- Robinson, Kelsy, Yingping Xiao, Timothy J. Johnson, Binlong Chen, Qing Yang, Wentao Lyu, Jing Wang, et al. 2020. „Chicken Intestinal Mycobiome: Initial Characterization and Its Response to Bacitracin Methylene Disalicylate". *Applied and Environmental Microbiology* 86 (13): e00304-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.00304-20>.
- Robyn, J., G. Rasschaert, D. Hermans, F. Pasmans, a M. Heyndrickx. 2013. „In Vivo Broiler Experiments to Assess Anti-Campylobacter Jejuni Activity of a Live Enterococcus Faecalis Strain". *Poultry Science* 92 (1): 265–71. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02712>.
- Rogers, Cm. 1991. „An Evaluation of the Method of Estimating Body-Fat in Birds by Quantifying Visible Subcutaneous Fat". *Journal of Field Ornithology* 62 (3): 349–56.
- Roggenbuck, Michael, Ida Baerholm Schnell, Nikolaj Blom, Jacob Baelum, Mads Frost Bertelsen, Thomas Sicheritz Ponten, Soren Johannes Sorensen, M. Thomas P. Gilbert, Gary R. Graves, a Lars H. Hansen. 2014. „The Microbiome of New World Vultures". *Nature Communications* 5 (listopad): 5498. <https://doi.org/10.1038/ncomms6498>.
- Ruiz-Rodriguez, Magdalena, Juan J. Soler, Francoise S. Lucas, Philipp Heeb, Maria Jose Palacios, David Martin-Galvez, Liesbeth de Neve, Tomas Perez-Contreras, Juan G. Martinez, a Manuel Soler. 2009. „Bacterial Diversity at the Cloaca Relates to an Immune Response in Magpie Pica Pica and to Body Condition of Great Spotted Cuckoo Clamator Glandarius Nestlings". *Journal of Avian Biology* 40 (1): 42–48. <https://doi.org/10.1111/j.1600-048X.2008.04471.x>.
- Saag, Pauli, Vallo Tilgar, Raivo Maend, Priit Kilgas, a Marko Maegi. 2011. „Plumage Bacterial Assemblages in a Breeding Wild Passerine: Relationships with Ecological Factors and Body Condition". *Microbial Ecology* 61 (4): 740–49. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9789-0>.
- Scupham, Alexandra J., Toni G. Patton, Elizabeth Bent, a Darrell O. Bayles. 2008. „Comparison of the Cecal Microbiota of Domestic and Wild Turkeys". *Microbial Ecology* 56 (2): 322–31. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9349-4>.

- Seewagen, Chad L. 2008. „An Evaluation of Condition Indices and Predictive Models for Noninvasive Estimates of Lipid Mass of Migrating Common Yellowthroats, Ovenbirds, and Swainson's Thrushes". *Journal of Field Ornithology* 79 (1): 80–86. <https://doi.org/10.1111/j.1557-9263.2007.00132.x>.
- Sefcova, Miroslava Anna, Marco Larrea-Alvarez, Cesar Marcelo Larrea-alvarez, Viera Karaffova, David Ortega-Paredes, Christian Vinueza-Burgos, Zuzana Sevcikova, Mikulas Levkut, Robert Herich, a Viera Revajova. 2021. „The Probiotic Lactobacillus Fermentum Biocenol CCM 7514 Moderates Campylobacter Jejuni-Induced Body Weight Impairment by Improving Gut Morphometry and Regulating Cecal Cytokine Abundance in Broiler Chickens". *Animals* 11 (1): 235. <https://doi.org/10.3390/ani11010235>.
- Seifi, Saeed, Mohammad Reza Shirzad, a Hasan Habibi. 2013. „Effects of Probiotic Yoghurt and Prebiotic Utilization on Performance and Some Haematological Parameters in Broiler Chickens". *Acta Scientiae Veterinariae* 41 (leden): 1103.
- Sekelja, M., I. Rud, S. H. Knutsen, V. Denstadli, B. Westereng, T. Naes, a K. Rudi. 2012. „Abrupt Temporal Fluctuations in the Chicken Fecal Microbiota Are Explained by Its Gastrointestinal Origin". *Applied and Environmental Microbiology* 78 (8): 2941–48. <https://doi.org/10.1128/AEM.05391-11>.
- Sender, Ron, Shai Fuchs, a Ron Milo. 2016. „Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans". *Cell* 164 (3): 337–40. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.013>.
- Schamber, Jason L., Daniel Esler, a Paul L. Flint. 2009. „Evaluating the Validity of Using Unverified Indices of Body Condition". *Journal of Avian Biology* 40 (1): 49–56. <https://doi.org/10.1111/j.1600-048X.2008.04462.x>.
- Siadati, S. A., Y. Ebrahimnezhad, Salehi Gh Jouzani, a J. Shayegh. 2017. „Evaluation of Probiotic Potential of Some Native Lactobacillus Strains on the Growth Performance and Serum Biochemical Parameters of Japanese Quails (*Coturnix Coturnix Japonica*) during Rearing Period". *Brazilian Journal of Poultry Science* 19 (3): 399–407. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0393>.
- Siegerstetter, Sina-Catherine, Stephan Schmitz-Esser, Elizabeth Magowan, Stefanie Urimare Wetzels, Qendrim Zebeli, Peadar G. Lawlor, Niamh E. O'Connell, a Barbara U. Metzler-Zebeli. 2017. „Intestinal Microbiota Profiles Associated with Low and High Residual Feed Intake in Chickens across Two Geographical Locations". *Plos One* 12 (11): e0187766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187766>.
- Singh, K. M., T. Shah, S. Deshpande, S. J. Jakhesara, P. G. Koringa, D. N. Rank, a C. G. Joshi. 2012. „High through Put 16S rRNA Gene-Based Pyrosequencing Analysis of the Fecal Microbiota of High FCR and Low FCR Broiler Growers". *Molecular Biology Reports* 39 (12): 10595–602. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1947-7>.
- Song, D., Y. W. Wang, Z. X. Lu, W. W. Wang, H. J. Miao, H. Zhou, L. Wang, a A. K. Li. 2019. „Effects of Dietary Supplementation of Microencapsulated Enterococcus Fecalis and the Extract of Camellia Oleifera Seed on Laying Performance, Egg Quality, Serum Biochemical Parameters, and Cecal Microflora Diversity in Laying Hens". *Poultry Science* 98 (7): 2880–87. <https://doi.org/10.3382/ps/pez033>.
- Song, Se Jin, Jon G. Sanders, Frederic Delsuc, Jessica Metcalf, Katherine Amato, Michael W. Taylor, Florent Mazel, et al. 2020. „Comparative Analyses of Vertebrate Gut Microbiomes Reveal Convergence between Birds and Bats". *Mbio* 11 (1): e02901-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.02901-19>.
- Sonoda, Kayoko, Kazuhiro Noguchi, a Shigeo Ekino. 2013. „Immune Complexes of E-Coli Antigens and Maternal IgG in the Bursa of Fabricius". *Cell and Tissue Research* 354 (3): 813–21. <https://doi.org/10.1007/s00441-013-1701-z>.
- Stanley, Dragana, Robert J. Hughes, Mark S. Geier, a Robert J. Moore. 2016. „Bacteria within the Gastrointestinal Tract Microbiota Correlated with Improved Growth and Feed Conversion: Challenges Presented for the Identification of Performance Enhancing Probiotic Bacteria". *Frontiers in Microbiology* 7 (únor): 187. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00187>.
- Stanley, Dragana, Robert J. Hughes, a Robert J. Moore. 2014. „Microbiota of the Chicken Gastrointestinal Tract: Influence on Health, Productivity and Disease". *Applied Microbiology and Biotechnology* 98 (10): 4301–10. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5646-2>.

- Stejskalová, Lucie. 2001. „Odhad tělesné kondice u ptáků - literární přehled". *Sylvia* 37: 3–16.
- Stinefelt, B., S. S. Leonard, K. P. Blemings, X. L. Shi, a H. Klandorf. 2005. „Free Radical Scavenging, DNA Protection, and Inhibition of Lipid Peroxidation Mediated by Uric Acid". *Annals of Clinical and Laboratory Science* 35 (1): 37–45.
- Strompfova, Viola, a Andrea Laukova. 2007. „In Vitro Study on Bacteriocin Production of Enterococci Associated with Chickens". *Anaerobe* 13 (5–6): 228–37. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.07.002>.
- Szczurek, Witold, Mohamed Nabil Alloui, a Damian Jozefiak. 2018. „The Effects of Dietary Whey Lactose and Lactobacillus Agilis Bacteria on the Growth Performance, Physicochemical Conditions of the Digestive Tract and the Caecal Microbial Ecology of Broiler Chickens". *Annals of Animal Science* 18 (2): 483–500. <https://doi.org/10.1515/aoas-2017-0045>.
- Taff, Conor C., a Andrea K. Townsend. 2017. „Campylobacter Jejuni Infection Associated with Relatively Poor Condition and Low Survival in a Wild Bird". *Journal of Avian Biology* 48 (8): 1071–76. <https://doi.org/10.1111/jav.01282>.
- Tankson, J. D., J. P. Thaxton, a Y. Vizzier-Thaxton. 2001. „Pulmonary Hypertension Syndrome in Broilers Caused by Enterococcus Faecalis". *Infection and Immunity* 69 (10): 6318–22. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.10.6318-6322.2001>.
- Teyssier, Aimeric, Lieze Oscar Rouffaer, Noraine Saleh Hudin, Diederik Strubbe, Erik Matthysen, Luc Lens, a Joel White. 2018. „Inside the Guts of the City: Urban-Induced Alterations of the Gut Microbiota in a Wild Passerine". *Science of the Total Environment* 612 (leden): 1276–86. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.035>.
- Thomas, Francois, Jan-Hendrik Hehemann, Etienne Rebuffet, Mirjam Czjzek, a Gurvan Michel. 2011. „Environmental and Gut Bacteroidetes: The Food Connection". *Frontiers in Microbiology* 2: 93. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00093>.
- Torok, Valeria A., Robert J. Hughes, Lene L. Mikkelsen, Rider Perez-Maldonado, Katherine Balding, Ron MacAlpine, Nigel J. Percy, a Kathy Ophel-Keller. 2011. „Identification and Characterization of Potential Performance-Related Gut Microbiotas in Broiler Chickens across Various Feeding Trials". *Applied and Environmental Microbiology* 77 (17): 5868–78. <https://doi.org/10.1128/AEM.00165-11>.
- Triplett, M. D., W. Zhai, E. D. Peebles, C. D. McDaniel, a A. S. Kiess. 2018. „Investigating Commercial in Ovo Technology as a Strategy for Introducing Probiotic Bacteria to Broiler Embryos". *Poultry Science* 97 (2): 658–66. <https://doi.org/10.3382/ps/pex317>.
- Turnbaugh, Peter J., Ruth E. Ley, Micah Hamady, Claire M. Fraser-Liggett, Rob Knight, a Jeffrey I. Gordon. 2007. „The Human Microbiome Project". *Nature* 449 (7164): 804–10. <https://doi.org/10.1038/nature06244>.
- Waite, David W., a Michael W. Taylor. 2014. „Characterizing the Avian Gut Microbiota: Membership, Driving Influences, and Potential Function". *Frontiers in Microbiology* 5 (květen). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00223>.
- Waite, David W., a Michael W. Taylor. 2015. „Exploring the Avian Gut Microbiota: Current Trends and Future Directions". *Frontiers in Microbiology* 6 (červenec). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00673>.
- Wang, Hesong, Xueqin Ni, Xiaodan Qing, Lei Liu, Jingxi Xin, Min Luo, Abdul Khaliq, et al. 2018. „Probiotic Lactobacillus Johnsonii BS15 Improves Blood Parameters Related to Immunity in Broilers Experimentally Infected with Subclinical Necrotic Enteritis". *Frontiers in Microbiology* 9 (leden): 49. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00049>.
- Wang, Wen, Jian Cao, Ji-Rong Li, Fang Yang, Zhuo Li, a Lai-Xing Li. 2016. „Comparative Analysis of the Gastrointestinal Microbial Communities of Bar-Headed Goose (Anser Indicus) in Different Breeding Patterns by High-Throughput Sequencing". *Microbiological Research* 182: 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.10.003>.
- Ward, Tonya L., Bonnie P. Weber, Kristelle M. Mendoza, Jessica L. Danzeisen, Katharine Llop, Kevin Lang, Jonathan B. Clayton, et al. 2019. „Antibiotics and Host-Tailored Probiotics Similarly Modulate Effects on the Developing Avian Microbiome, Mycobiome, and Host Gene Expression". *Mbio* 10 (5): e02171-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.02171-19>.

- Wei, S., M. Morrison, a Z. Yu. 2013. „Bacterial Census of Poultry Intestinal Microbiome". *Poultry Science* 92 (3): 671–83. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02822>.
- White, Joel, Pascal Mirleau, Etienne Danchin, Herve Mulard, Scott A. Hatch, Philipp Heeb, a Richard H. Wagner. 2010. „Sexually Transmitted Bacteria Affect Female Cloacal Assemblages in a Wild Bird". *Ecology Letters* 13 (12): 1515–24. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01542.x>.
- Wielen, Pwjj van der, S. Biesterveld, S. Notermans, H. Hofstra, B. a. P. Urlings, a F. van Knapen. 2000. „Role of Volatile Fatty Acids in Development of the Cecal Microflora in Broiler Chickens during Growth". *Applied and Environmental Microbiology* 66 (6): 2536–40. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.6.2536-2540.2000>.
- Wilkinson, Ngare, Robert J. Hughes, William J. Aspden, James Chapman, Robert J. Moore, a Dragana Stanley. 2016. „The Gastrointestinal Tract Microbiota of the Japanese Quail, *Coturnix Japonica*". *Applied Microbiology and Biotechnology* 100 (9): 4201–9. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7280-z>.
- Xenoulis, Panagiotis G., Patricia L. Gray, Donald Brightsmith, Blake Palculict, Sharman Hoppes, Jörg M. Steiner, Ian Tizard, a Jan S. Suchodolski. 2010. „Molecular Characterization of the Cloacal Microbiota of Wild and Captive Parrots". *Veterinary Microbiology* 146 (3–4): 320–25. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.05.024>.
- Xiao, Yingping, Yun Xiang, Weidong Zhou, Jinggang Chen, Kaifeng Li, a Hua Yang. 2017. „Microbial Community Mapping in Intestinal Tract of Broiler Chicken". *Poultry Science* 96 (5): 1387–93. <https://doi.org/10.3382/ps/pew372>.
- Yan, Wei, Congjiao Sun, Jingwei Yuan, a Ning Yang. 2017. „Gut Metagenomic Analysis Reveals Prominent Roles of *Lactobacillus* and Cecal Microbiota in Chicken Feed Efficiency". *Scientific Reports* 7 (březen): 45308. <https://doi.org/10.1038/srep45308>.
- Yazhini, P., P. Visha, P. Selvaraj, P. Vasanthakumar, a V. Chandran. 2018. „Dietary Encapsulated Probiotic Effect on Broiler Serum Biochemical Parameters". *Veterinary World* 11 (9): 1344–48. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1344-1348>.
- Zablotni, Agnieszka, Adam Kalinski, Mirosława Banbura, Michał Gladalski, Marcin Markowski, Joanna Skwarska, Jarosław Wawrzyniak, a Jerzy Banbura. 2020. „Experimental Nest Replacement Suggests That the Bacterial Load of Nests May Mediate Nestling Physiological Condition in Cavity Nesting Great Tits (*Parus Major*)". *Journal of Ornithology* 161 (3): 819–28. <https://doi.org/10.1007/s10336-020-01759-8>.
- Zhang, T., J. Xie, M. Zhang, N. Fu, a Y. Zhang. 2016. „Effect of a Potential Probiotics *Lactococcus Garvieae* B301 on the Growth Performance, Immune Parameters and Caecum Microflora of Broiler Chickens". *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 100 (3): 413–21. <https://doi.org/10.1111/jpn.12388>.
- Zheng, Aijuan, Jianjie Luo, Kun Meng, Jianke Li, Wayne L. Bryden, Wenhuan Chang, Shu Zhang, L. X. N. Wang, Guohua Liu, a Bin Yao. 2016. „Probiotic (*Enterococcus Faecium*) Induced Responses of the Hepatic Proteome Improves Metabolic Efficiency of Broiler Chickens (*Gallus Gallus*)". *Bmc Genomics* 17 (únor): 89. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2371-5>.
- Zhu, Chunhong, Weitao Song, Zhiyun Tao, Hongxiang Liu, Shuangjie Zhang, Wenjuan Xu, a Huifang Li. 2020. „Analysis of Microbial Diversity and Composition in Small Intestine during Different Development Times in Ducks". *Poultry Science* 99 (2): 1096–1106. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.030>.